

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 17/02/2014
Par Mme Denchiche Naïma**

**Infection à *Clostridium difficile*, nouvelle stratégie thérapeutique :
La bactériothérapie (ou transplantation de microbiote fécal)**

Membres du jury :

Président : Mme Neut Christel, maitre de conférences, faculté de pharmacie de Lille

Assesseur(s) : Mme Odou Marie-Françoise, maitre de conférences, faculté de pharmacie de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr Pineton de Chambrun Guillaume, chef de clinique, CHRU de Lille



Université Lille 2
Droit et Santé

**Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille**

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006

LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président : Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents : Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Patrick PELAYO
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Monique CAPRON
Professeur Salem KACET
Madame Stéphanie DAMAREY
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Monsieur Edouard DANJOU

Directeur Général des Services : Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen : Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur : Professeur Damien CUNY
Assesseurs : Mme Nadine ROGER
Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs : Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques

M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique

M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)
----	--------	-------	------------------------------

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique

M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mlle	LEONHARD	Julie	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MOUTON	Nicolas	Physique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVÁ	Frank	Biochimie
Melle	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie

M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

A Madame Neut

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et d'encadrer la rédaction de cette thèse. Merci pour vos conseils. Soyez assurée de l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Madame Odou

Merci de m'honorer de votre présence au sein du jury de cette thèse.

Au Docteur Pineton de Chambrun

Merci de me faire l'honneur de juger cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mon respect.

Je dédie cette thèse

A mes parents

Merci de m'avoir soutenu, d'être toujours présents pour moi. Merci de m'avoir permis d'étudier dans les meilleures conditions.

A mes frères et sœurs (Souad, Nabil, Mouna, Zakia et Rachid)

Merci pour vos encouragements. Merci de m'avoir supporté pendant ces longues périodes de révisions !!!

A mes neveux (Zakaria, Yasser et Oussama) que j'embrasse fort !

A mes amies (Fayza, Samar et Nawal)

En souvenir de nos fous rires sur les bancs de la fac. Merci pour vos conseils, votre amitié.

A mes amis (Sihame, Souraya, Khadija, Malika et Aasma)

Merci pour tous ces bons moments passés ensemble à la bibliothèque ou en salle de travail. Ces six dernières années n'auraient rien été sans vous.

A Souad

Merci pour ton amitié depuis l'école primaire. Merci d'avoir relu ma thèse.

A mes beaux-parents

Merci pour votre soutien et votre aide depuis Lyon !

A mon mari Hakeem,

qui m'a toujours aidé et encouragé pour la rédaction de cette thèse. Je te remercie pour ta patience et ton amour.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	7
LISTE DES ABREVIATIONS	12
LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES TABLEAUX	14
INTRODUCTION	15
1. CLOSTRIDIUM DIFFICILE	16
1.1 BACTERIOLOGIE	16
1.2. POUVOIR PATHOGENE	17
1.2.1. <i>La colonisation</i>	17
1.2.2 <i>Les toxines</i>	17
1.2.3 <i>Mécanisme d'action des toxines</i>	19
1.3 TRANSMISSION DU <i>C. DIFFICILE</i>	20
1.4 ABSENCE DE RESISTANCE A LA COLONISATION	21
1.5 MANIFESTATIONS CLINIQUES :	22
1.5.1 <i>Portage asymptomatique</i>	22
1.5.2 <i>Diarrhée simple post-antibiotiques</i>	22
1.5.3 <i>Colite pseudomembraneuse (CPM)</i>	22
1.5.4 <i>Les rechutes</i>	23
1.6 ÉPIDEMIOLOGIE	23
1.6.1 <i>Infection communautaire</i>	24
1.6.2 <i>Infection en milieu hospitalier</i>	24
1.6.2.1 <i>En Amérique du nord</i>	24
1.6.2.2 <i>En Europe</i>	24
1.6.2.3 <i>En France</i>	25
1.7 FACTEURS DE RISQUES	26
1.7.1 <i>Antibiothérapie</i>	26
1.7.2. <i>Age</i>	28
1.7.3. <i>Déficit immunitaire</i>	29
1.7.4. <i>Autres facteurs</i>	30
1.8 DIAGNOSTIC	30
1.8.1 <i>Culture</i>	31
1.8.2 <i>Mise en évidence de la toxine</i>	31
1.8.2.1 <i>Test de cytotoxicité</i>	31
1.8.2.2 <i>Tests immuno-enzymatiques</i>	31
1.8.2.3 <i>Technique de biologie moléculaire</i>	31
1.8.3 <i>Mise en évidence de C. difficile dans les selles</i>	32

1.8.3.1	Mise en évidence de la Glutamate déshydrogénase (GDH)	32
1.8.3.2	La culture toxigénique	32
1.9	TRAITEMENT	33
1.9.1	<i>Première épisode</i>	33
1.9.1.1	Traitement standard	33
1.9.1.2	Autres traitements antibiotiques	35
1.9.1.3	Traitements antibiotiques en cours d'évaluation	35
1.9.1.4	Les résines échangeuses d'ions	35
1.9.1.5	Mesures de préventions	36
1.9.2	<i>Récidives</i>	37
2.	NOUVELLES STRATEGIES THERAPEUTIQUES	38
2.1	APPROCHE IMMUNOLOGIQUE	38
2.1.1	<i>Corrélation entre la réponse immunitaire et la clinique</i>	38
2.1.2	<i>Indicateur de protection immunitaire</i>	39
2.1.3	<i>Les différents traitements</i>	40
2.1.3.1	Les immunoglobulines polyvalentes en intraveineuse (IVIG)	40
2.1.3.2	Les Anticorps monoclonaux	42
2.1.3.3	Vaccination	46
2.2	BACTERIOTHERAPIE	46
2.2.1	<i>Généralités</i>	46
2.2.2	<i>Indications</i>	47
2.2.3	<i>Le donneur</i>	48
2.2.3.1	Choix du donneur	48
2.2.3.1.1	Donneur ayant un lien avec le receveur :	48
2.2.3.1.2	Donneur sans lien avec le receveur :	49
2.2.3.2	Dépistage du donneur	49
2.2.3.2.1	Critères d'exclusion absolue	49
a.	Risque de transmission d'un agent infectieux :	49
b.	Comorbidités gastro-intestinales :	50
c.	Facteurs pouvant modifier la composition du microbiote intestinal :	50
d.	Autres :	50
2.2.3.2.2	Critères d'exclusion relative	50
2.2.3.2.3	Tests sanguins du donneur	51
2.2.3.2.4	Tests réalisés sur les selles du donneur	51
2.2.3.3	La préparation du donneur	52
2.2.4	<i>Préparation de la suspension fécale à transplanter</i>	52
2.2.5	<i>Préparation du receveur</i>	54
2.2.6	<i>Voie d'administration</i>	54
2.2.6.1	Partie inférieure du tractus gastro-intestinal	54
2.2.6.1.1	Par coloscopie	54
2.2.6.1.2	Par lavement rectal	57
2.2.6.2	Partie supérieure du tractus gastro-intestinal	58
2.2.6.2.1	Administration par sonde	58

2.2.6.2.2 Administration par gélules	59
2.2.7 Résultats	61
2.2.8 Effets indésirables.....	62
2.2.9 Les limites	63
2.2.9.1 Limites des résultats	63
2.2.9.2 Limites à son application.....	63
2.2.9.2.1 Facteur d’aversion	63
2.2.9.2.2 Risque de transmission d’agents pathogènes	64
2.2.10 Perspectives.....	67
CONCLUSION	71
ANNEXES	72
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	76

Liste des abréviations

ICD : Infection à *Clostridium difficile*

ILCD : Infection liée à *Clostridium difficile*

DCD : diarrhée à *Clostridium difficile*

CPM : colite pseudomembraneuse

PN : polynucléaire neutrophile

InVS : institut de veille sanitaire

CNR : centre national de référence

ES : établissement de santé

EHPAD : établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

IPP : inhibiteur de pompe à proton

CCLIN : centre interrégional de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales

CCFA : Cycloserine Cefoxitine Fructose Agar

PCR : Polymerase Chain Reaction

TMF : transplantation de microbiote fécal

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

HTLV : virus lymphotrophique humain

CMV : Cytomégalovirus

Ig A et B : Immunoglobuline A et B

IVIG : Immunoglobulines polyvalentes en intraveineuse

MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

Liste des figures

Figure 1 : *Clostridium difficile* à la coloration de gram

Figure 2 : *Clostridium difficile*, aspect des colonies

Figure 3 : Locus de pathogénicité codé par 5 gènes

Figure 4 : Mécanisme d'action des toxines

Figure 5 : Aspect endoscopique de colite pseudomembraneuse

Figure 6 : Evolution de l'incidence des ICD en fonction de l'âge

Figure 7 : Nombre de souches de *C. difficile* caractérisées par le CNR et proportion de souches 027 épidémiques, par région d'origine, France, Janvier 2009

Figure 8 : Algorithme de diagnostic des infections à *C. difficile*

Figure 9 : Traitement d'un premier épisode ou d'une récurrence d'infection à *C. difficile*

Figure 10 : Physiopathologie de l'infection à *C. difficile*

Figure 11 : Anticorps sériques dirigés contre les toxines A et B

Figure 12 : Progression du fibroscope lors d'une coloscopie

Figure 13: Position des sondes naso-gastriques et naso-jéjunales

Liste des tableaux

Tableau 1 : Epidémiologie des diarrhées et/ou des colites des antibiotiques

Tableau 2 : Comparaison de traitement antibiotique des patients hospitalisés positifs et négatifs à ICD

Tableau 3 : Facteurs de risque des diarrhées associées aux antibiotiques

Tableau 4 : Profils des 14 patients traités par IVIG

Tableau 5 : Caractéristiques démographiques et cliniques des patients lors de leur inclusion à l'étude portant sur l'utilisation des anticorps dans la prévention secondaire des ICD

Tableau 6 : Bactériothérapie par coloscopie

Tableau 7 : Bactériothérapie par lavement rectal

Tableau 8 : Bactériothérapie par la partie supérieure du tractus gastro-intestinal

Tableau 9 : Composition du substitut de selles

INTRODUCTION

Clostridium difficile (CD) est un bacille à Gram positif anaérobie sporulé, décrit pour la première fois par Hall et O'Toole en 1935. Il serait responsable de 15 à 25 % des diarrhées post-antibiotiques et de plus de 95 % des cas de colites pseudomembraneuses. C'est la principale cause d'infection nosocomiale chez l'adulte. Les principaux facteurs de risques de l'infection à *C. difficile* sont l'administration d'antibiotiques, l'âge avancé et la présence de comorbidités. Depuis 2003, l'incidence et la gravité de cette infection ont significativement augmenté en Amérique et en Europe. Le traitement de première intention est le métronidazole. La vancomycine est réservée aux formes sévères ou en cas d'intolérance ou d'échec au métronidazole. Les récurrences de diarrhée due au *C. difficile* sont très fréquentes à l'arrêt du traitement. Elles surviennent dans environ 20% des cas dans les deux mois suivant un épisode initial et sont souvent multiples. Elles sont dues soit à la persistance de spores, soit à une réinfection. Ces multiples récurrences constituent un réel défi thérapeutique. C'est pourquoi de nouvelles stratégies doivent être envisagées.

Dans une première partie, nous ferons le point sur la physiopathologie, la transmission, le diagnostic, l'épidémiologie et les traitements conventionnels de l'infection à *C. difficile*. Dans une seconde partie, nous traiterons des récentes alternatives thérapeutiques non antibiotiques. Nous insisterons particulièrement sur la bactériothérapie aussi appelée transplantation de flore fécale.

1. *Clostridium difficile*

1.1 Bactériologie

C. difficile est un bacille à gram positif sporulé anaérobie dont la première description a été faite en 1935 par Hall et O'Toole. Sa taille varie de 0.5 à 2µm de largeur sur 3 à 15µm de longueur. Il possède parfois une ciliature pérित्रique qui lui permet d'être mobile. Les spores sont ovales, subterminales (rarement terminales) et déformantes. En condition d'anaérobiose, il se développe facilement sur un milieu gélosé cœur-cerveau additionné de sang de cheval à 5%. Les colonies ont une taille de 2 à 4mm après 24 heures d'incubation et peuvent atteindre 8 à 12mm après 48h. Elles sont grises, mates, opaques et fluorescentes à la lumière ultra-violette. Leur contour est irrégulier. Observées à la loupe binoculaire, elles présentent un aspect en « verre brisé » et leur odeur est tout à fait caractéristique (crottin de cheval). [1]

Figure 1: *C. difficile*, coloration de gram [1]



Figure 2: *C. difficile*, aspect des colonies [2]



1.2. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène du *C. difficile* repose sur deux éléments, la colonisation digestive et la production de toxines.

1.2.1. La colonisation

La colonisation digestive du *C. difficile* débute par son adhésion aux cellules hôtes de la muqueuse intestinale. Plusieurs structures bactériennes impliquées dans ce mécanisme d'adhésion ont pu être identifiées.

- *Les protéines de la couche S*
Toutes les souches toxigènes ou non en possèdent. La couche S est composée de deux couches protéiques superposées. La couche la plus externe, fine est constituée par la protéine P36 et la couche interne, épaisse, est constituée par une protéine glycosylée appelée P47.
- *L'adhésine Cwp66*
Il s'agit d'une protéine de surface.
- *La protéine de liaison à la fibronectine Fbp68*
Elle est capable de se lier à la fibronectine soluble ou immobilisée.
- *La protéine de choc thermique GroEL*
Elle est retrouvée à la surface de la bactérie après un choc thermique à 48°C.
- *Les flagelles*
Elles jouent un rôle dans l'attachement au mucus, première barrière rencontrée lors de la colonisation.
- Les enzymes bactériennes telles que *l'hyaluronidase, la chondroïtine-4-sulphatase, la gélatinase.*
Toutefois, le rôle de ces enzymes dans la physiopathologie de l'infection à *C. difficile* demeure mal connu. [4]

Une flore intestinale équilibrée offre une protection contre cette colonisation.

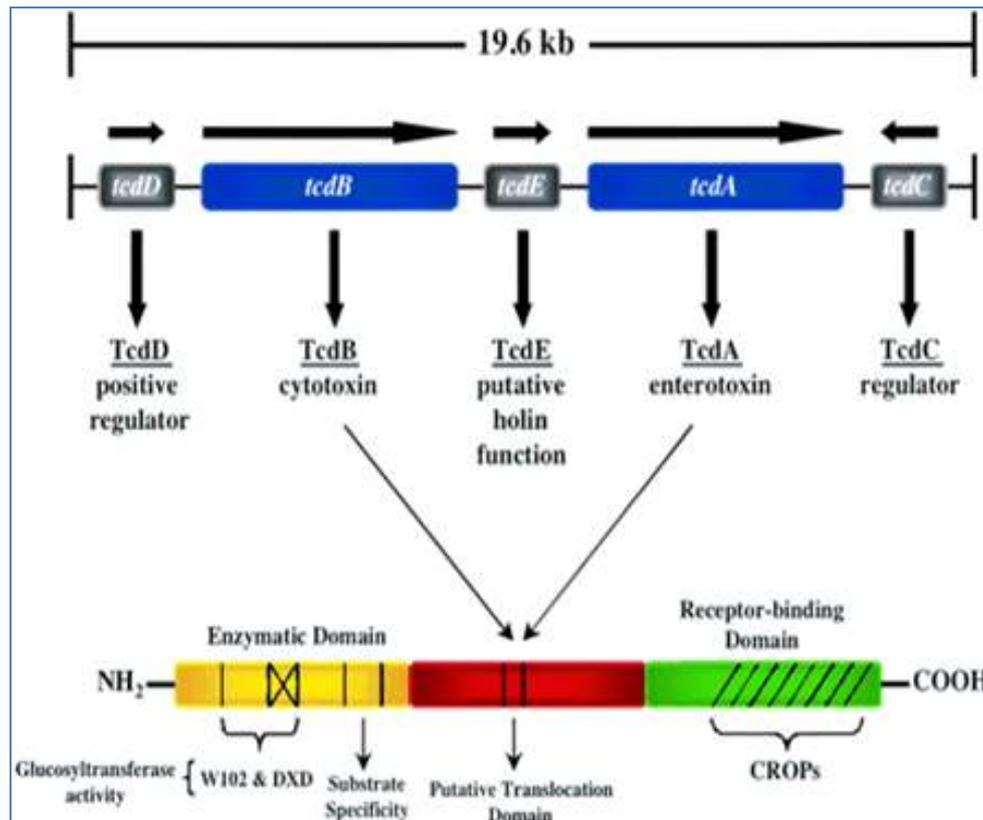
1.2.2 Les toxines

La pathogénicité du *C. difficile* repose principalement sur la sécrétion des toxines A (tcdA) et B (tcdB).

Ces deux toxines sont codées par deux gènes portés par un même locus de pathogénicité PacLoc. Elles sont constituées d'un polypeptide de grande taille, 308

kDa pour la toxine A et 270 kDa pour la toxine B. Ces deux toxines présentent une forte homologie de séquence. Sur le plan fonctionnel, elles se caractérisent par trois domaines. Doué d'une activité toxique, le premier domaine est situé à l'extrémité NH₂ terminale. Formé d'unités répétées, le deuxième domaine est responsable de la fixation aux cellules et se situe à l'extrémité COOH terminale. Au milieu de la chaîne peptidique, le troisième domaine semble être impliqué dans la pénétration dans les cellules. [4]

Figure 3: Locus de pathogénicité codé par 5 gènes [5]



La toxine A est une entérotoxine, létale et cytotoxique. Elle induit une inflammation importante avec infiltration massive de la muqueuse intestinale par des polynucléaires et des cellules mononuclées, une nécrose de l'épithélium intestinal et une accumulation de fluide dans le tractus digestif.

La toxine B est une cytotoxine. Elle est 1000 fois plus puissante que la toxine A. Elle provoque sur les cellules traitées un arrondissement et une rétractation cellulaires avec des extensions cytoplasmiques avec persistance de points d'ancrage au support donnant un aspect d'étoile.

Les souches de *C. difficile* ne produisant aucune de ces deux toxines ne sont pas pathogènes. Chez ces souches, le locus de pathogénicité est remplacé par une séquence de 127 bases ne codant pour aucune protéine. [4]

Un nouveau ribotype du *C. difficile* a été mis en évidence récemment aux Etats-Unis. Il est appelé «ribotype 027». Il est capable de produire une troisième toxine nommée toxine binaire qui pourrait agir en potentialisant les effets des toxines A et B au niveau du cytosquelette d'actine par un mécanisme complémentaire.

Warny et al. ont montré que cette souche 027 secrète in vitro 16 fois plus de toxine A et 23 fois plus de toxine B que les souches habituelles. Cette hyperproduction serait due à la présence d'une délétion ponctuelle en position 117 du gène *tcdC* qui réprime l'expression des toxines A et B. [6]

1.2.3 Mécanisme d'action des toxines

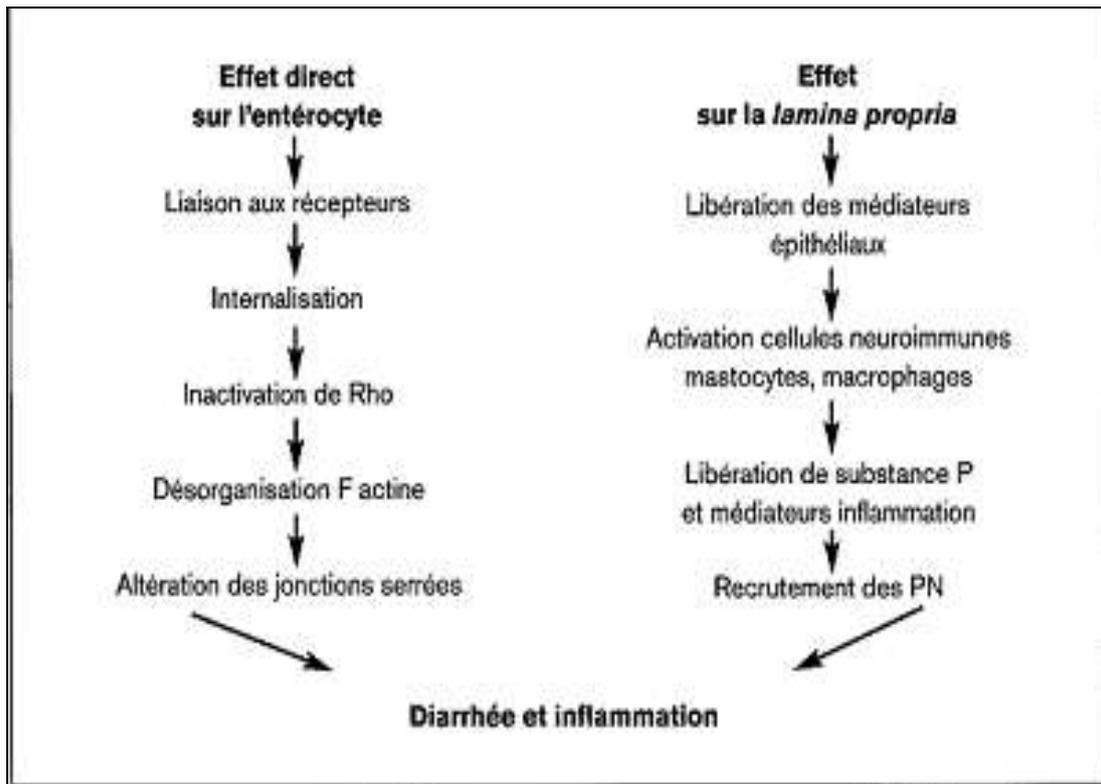
Les toxines A et B possèdent une action directe sur les entérocytes et une action indirecte sur les cellules de la lamina propria.

Les toxines se lient à leurs récepteurs situés à la surface apicale des entérocytes, puis sont internalisées par endocytose dans le cytosol. Pour être activées, les toxines doivent passer dans un compartiment intracellulaire acide. C'est alors qu'elles catalysent le transfert d'une molécule de glucose sur les protéines de signalisation : RhoA, Rac et Cdc42. Il en résulte une désorganisation du cytosquelette cellulaire. Ceci est à l'origine de la modification de l'organisation des jonctions serrées des cellules épithéliales accompagnées de la perméabilité paracellulaire responsable de la diarrhée aqueuse.

Via l'activation du facteur NF-kappaB, les toxines A et B possèdent également une activité indirecte. En effet, elles induisent la production de cytokines pro-inflammatoires par les monocytes, les entérocytes ainsi que les macrophages de la lamina propria. La sécrétion de ces molécules entraîne le recrutement de polynucléaires neutrophiles (PN) activés responsable de la nécrose des cellules coliques.

De plus, la présence de la toxine A au niveau de l'épithélium colique, entraîne l'augmentation de la sécrétion de certains neuropeptides tels que la substance P ainsi que l'augmentation de leurs récepteurs de haute affinité dans les macrophages de la lamina propria. La liaison de ces peptides à leurs récepteurs entraîne la sécrétion de TNF-alpha, cytokine pro-inflammatoire. [4]

Figure 4: Mécanisme d'action des toxines [4]



1.3 Transmission du *C. difficile*

C. difficile est la première cause de diarrhée infectieuse dans les hôpitaux et les établissements de soins de longue durée. La bactérie et ses spores se retrouvent dans les selles. C'est la forme végétative qui est à l'origine de la maladie. En conditions défavorables pour la bactérie, celle-ci produit des spores qui lui permettent de survivre sur des surfaces inertes dans l'environnement.

Le mode de transmission le plus fréquent est la voie oro-fécale. La contamination se fait soit par manuportage soit à partir de l'environnement contaminé.

Il a été démontré qu'en cas de diarrhée à *C. difficile*, l'environnement du patient est contaminé en 24h par les spores qui persistent pendant des mois malgré un nettoyage correct. [1]

En milieu hospitalier, les facteurs favorisant la transmission sont :

- *La diarrhée*

La transmission est corrélée à l'intensité de la contamination environnementale.

- *La résistance des spores dans l'environnement*

Les objets les plus fréquemment contaminés sont les sols, les toilettes, la literie, les barreaux de lits, les tables de lits, les interrupteurs, les poignées

de portes et les téléphones. Les autres sources de contamination sont les blouses, les brassards, les thermomètres. On retrouve également des spores sur les mains du personnel soignant.

- *La promiscuité des patients*

Les patients sont parfois accueillis dans la même chambre.

- *La pression de colonisation*

- *La pression antibiotique*

Elle entraîne une diminution de la résistance à la colonisation et favorise l'implantation du *C. difficile*. [7]

1.4 Absence de résistance à la colonisation

A l'état physiologique, la flore intestinale est constituée de plus de 400 espèces bactériennes différentes Elle comprend majoritairement des bactéries anaérobies telles que les genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotell* et autres. Le nombre et la diversité des espèces varient avec l'âge et selon les différents segments du tube digestif. Mais une fois établie la flore intestinale est relativement stable chez un même individu.

Le microbiote intestinal est essentiel à l'homéostasie de l'hôte et joue un rôle dans la nutrition, le métabolisme et la régulation de la réponse immunitaire. Il assure également une protection contre les agents pathogènes. Les bactéries endogènes résidant dans le colon sain sont capables d'empêcher la colonisation de l'intestin par des micro-organismes pathogènes. C'est ce qu'on appelle « Résistance à la colonisation » ou « l'effet de barrière ».

Après exposition aux antibiotiques, la rupture de la diversité commensale est à l'origine d'une diminution de la résistance à la colonisation par *C. difficile* présent dans l'environnement sous forme de spores surtout dans l'environnement hospitalier ou déjà présent dans l'intestin. Si le germe est présent il se multiplie alors dans la lumière colique et produit s'il est toxigène, la toxine A et/ou la toxine B [8]. Selon l'intensité de la réponse immunitaire de l'hôte envers *C. difficile*, le patient développera ou non les signes cliniques de l'infection.

Après l'arrêt d'un traitement antibiotique, la pression sélective exercée dans la lumière du tube digestif disparaît et l'écosystème se reconstitue soit à partir de bactéries de l'environnement, soit plus souvent à partir des bactéries ayant subsisté dans des niches écologiques inaccessibles à l'antibiotique [9].

1.5 Manifestations cliniques : [10]

1.5.1 Portage asymptomatique

Un portage asymptomatique est retrouvé chez moins de 3% des adultes sains. Les souches isolées sont le plus souvent des souches non toxigènes. Dans moins de 1% des cas, les toxines de *C. difficile* peuvent être mises en évidence dans les selles de patients adultes asymptomatiques. Cependant le portage asymptomatique de souches toxigènes est beaucoup plus fréquent chez les nourrissons (5 à 70%).

1.5.2 Diarrhée simple post-antibiotiques

Dans les formes simples, la diarrhée est modérée sans glaire ni sang visible. Elle peut être accompagnée de fièvre mais il n'y a pas d'altération de l'état général. L'examen endoscopique (non nécessaire dans ce contexte clinique) montre une muqueuse d'aspect normal ou érosive.

1.5.3 Colite pseudomembraneuse (CPM)

La CPM est une forme grave. Elle débute par une diarrhée liquide abondante (plus de sept selles par jour) constituée de selles hétérogènes en général non sanglantes. Elle est souvent accompagnée de fièvre et de crampes abdominales. Une hyperleucocytose et un syndrome biologique inflammatoire sont habituels. L'examen endoscopique met en évidence au niveau de la muqueuse colique la présence de plaques jaunes et friables appelées pseudomembranes. Ces dernières sont constituées de débris cellulaires, de mucus, de fibrine et de leucocytes. Lorsque ces infections se compliquent (perforation colique, méga côlon toxique, choc septique), elles peuvent entraîner le décès du patient.

Figure 4: Aspect endoscopique de colite pseudomembraneuse [11]



1.5.4 Les rechutes

La fréquence des rechutes d'infections à *C. difficile* est élevée. Elles surviennent dans environ 20% des cas dans les deux mois qui suivent un épisode initial. Un patient qui présente une première rechute développe plus de risque de faire de multiples rechutes ultérieurement. Dans environ la moitié des cas, il s'agit de récurrence. Elles sont liées à la persistance malgré un traitement efficace de la souche initiale dans le tube digestif sous forme sporulée. Et dans l'autre moitié, il s'agit d'une ré-infestation par une souche différente de la souche initiale acquise le plus souvent au cours d'une hospitalisation. Les antibiotiques diminuent le taux de *C. difficile* mais ne reconstituent pas la flore normale.

1.6 Épidémiologie

C. difficile est responsable de 15 à 25% des diarrhées post-antibiotiques et de plus de 95% des cas de colites pseudomembraneuses. Cette bactérie est reconnue comme la principale étiologie des infections nosocomiales de l'adulte. L'incidence des infections en milieu hospitalier varie entre 1 et 10 pour 1000 patients admis. *C. difficile* est également responsable d'épidémies [12].

Tableau 1: épidémiologie des diarrhées et/ou des colites des antibiotiques [13]

	Pour 100 000 habitants en population générale	Pour 100 000 patients hospitalisés
Prescriptions d'antibiotiques	100 000	100 000
Diarrhée brève	5 000	6 000
Diarrhée non médicalisée lié à <i>Clostridium difficile</i>	1 500	3 000
Diarrhée post-antibiotiques explorée en ambulatoire	15	
Colite	5	15
Colite sévère à <i>Clostridium difficile</i>	0.5	3
Colectomie/ Décès	0.3	0.5-1.05

1.6.1 Infection communautaire

En population générale, sur 100 000 habitants, se produit en moyenne une exposition annuelle aux antibiotiques. On peut atteindre 50 000 cas (50%) de vraie diarrhée (plus de trois selles pendant aux moins deux jours). Dans la majorité des cas cette diarrhée est spontanément résolutive et sans fièvre [13].

1.6.2 Infection en milieu hospitalier

En milieu hospitalier, sur 100 000 patients traités par antibiotiques, 60 000 développent une diarrhée nosocomiale liée environ une fois sur deux à *C. difficile* dû à un portage élevé du germe chez les malades hospitalisés et dans l'environnement hospitalier. L'incidence finale des formes sévères de colites à *C. difficile* est plus fréquente qu'en population générale du fait d'une population en moyenne plus âgée et atteinte de comorbidité [13].

1.6.2.1 En Amérique du nord

Depuis 2003, les Etats-Unis et le Canada ont constaté une augmentation de l'incidence des infections à *C. difficile* liée à l'émergence et à la dissémination d'un clone particulièrement virulent, dénommé « 027 » en référence à son profil par PCR ribotypage.

Cette augmentation de l'incidence s'est accompagnée d'une augmentation de la sévérité et de la létalité des formes cliniques à *C. difficile*. Au Québec, la proportion de formes compliquées est passée de 7.1% à 18.2% entre 1991 et 2003.

Aux Etats-Unis, le taux de mortalité par *C. difficile* a été multiplié par 2.7 entre 1999 et 2002. De plus, on constate une moins bonne réponse au traitement par métronidazole. Entre 2002 et 2004 la proportion d'échec a été multipliée par 2.5 et le taux de rechute par 2 chez les personnes de plus de 65 ans.

1.6.2.2 En Europe

Des épidémies similaires à ceux d'Amérique du Nord ont été détectées en Europe touchant la Grande-Bretagne, les Pays-Bas et la Belgique.

En Grande-Bretagne, deux épidémies importantes à *C. difficile* 027 sont survenues au sein du même hôpital situé dans le sud-est du pays, totalisant 334 cas et une quarantaine de décès.

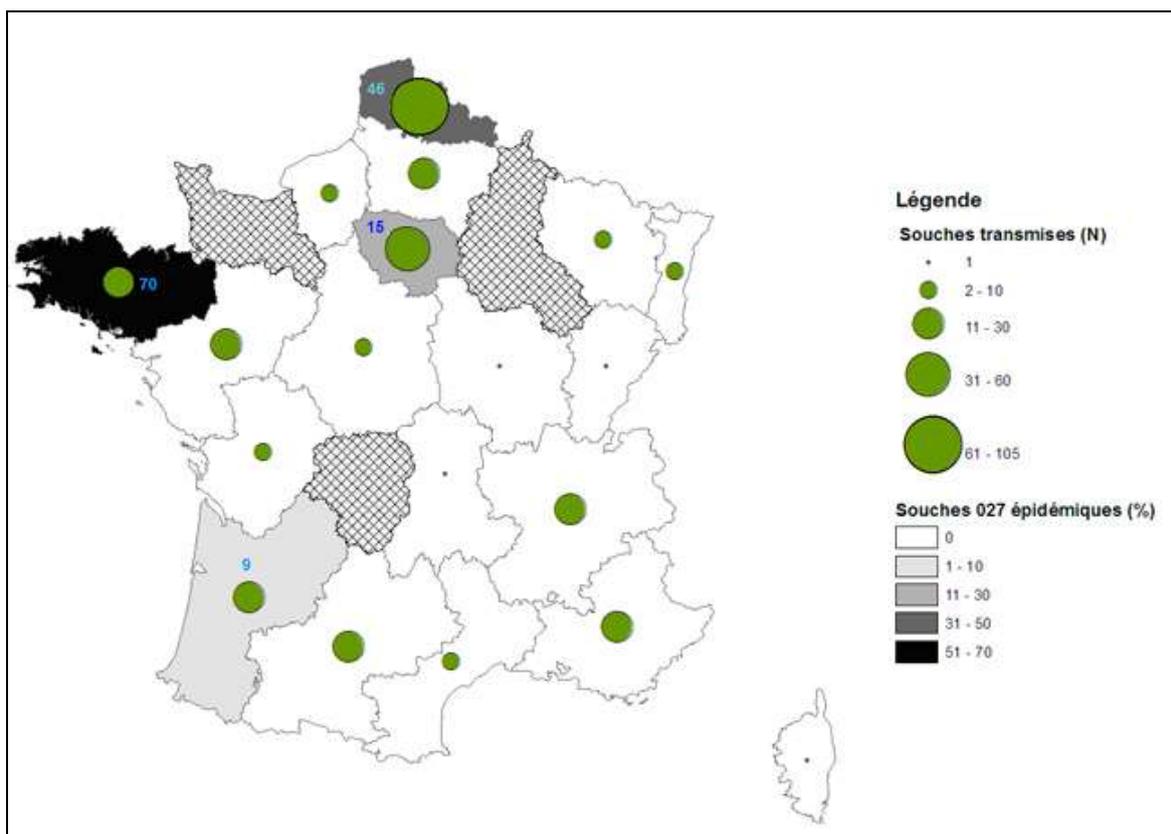
Aux Pays-Bas, l'incidence des ICD (infection à *C. difficile*) a été multipliée par 20 entre 2004 et 2005. En juin 2007, la souche 027 a été isolée dans 20 établissements de santé et 7 maisons de retraite.

En Belgique, la première épidémie d'infection à *C. difficile* liée à la souche 027 a été rapportée en octobre 2005 dans un hôpital d'Ypres dans le sud-ouest du pays où l'incidence est passée de 10 à 30 pour 10 000 admissions [14].

1.6.2.3 En France

En France, l'institut de veille sanitaire (InVS) a recensé 265 cas d'infections à *C. difficile* entre juillet 2009 et juin 2010. Ces signalements émanaient de 83 établissements répartis sur 22 régions de France métropolitaine. L'île de France était au premier rang en nombre de signalements devant le Nord-Pas-de-Calais. 21.5% des souches typées appartenaient au clone 027. Des souches appartenant au clone épidémique 027 ont été identifiées dans 5 régions françaises métropolitaines. La région la plus concernée demeure le Nord-Pas-de-Calais où une épidémie avait débuté en 2006.

Figure 5 : Nombre de souches de *C. difficile* caractérisées par le CNR et proportion de souches 027 épidémiques, par région d'origine, France, Janvier 2009 (N=314) [15]



Si l'on compare les régions en fonction du nombre de souches transmises et de la proportion de souche 027, on remarque que la région Nord-Pas-de-Calais reste toujours principalement concernée. La Bretagne se caractérise quant à elle par une

forte proportion de souches 027 (presque 70 %), liée principalement au signalement d'une épidémie récente dans un seul établissement de santé (ES) ; cette proportion ne reflète donc pas l'épidémiologie des ICD dans tous les ES de cette région mais elle rend compte de la circulation locale de la souche 027, d'autant que certains cas étaient d'origine communautaire [15].

1.7 Facteurs de risques

1.7.1 Antibiothérapie

Dans 95% des cas, la survenue d'une infection à *C. difficile* est précédée d'une administration d'antibiotiques qui vont agir en déséquilibrant la flore digestive [16].

Le tableau (ci-après) présente les résultats d'une étude rétrospective menée au Strong Memorial Hospital entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2005 auprès des patients hospitalisés âgés de plus de 18 ans et ayant reçu plus de deux jours de traitement antibiotiques.

Tableau 2: Comparaison de traitement antibiotique des patients hospitalisés positifs et négatifs à ICD [17]

caractéristiques	ICD positive n(%)	ICD négative n(%)	Risque relatif brut (95%CI)
Doses quotidiennes définies médiane (IQR)	14.8 (21.2)	7.2 (12.3)	-
Inférieur à 3.0	18 (7)	1502 (15)	Ref
3.0 à 7.79	49 (20)	3702 (37)	1.1 (0.7, 2.1)
7.80 à 21.0	89 (37)	2952 (30)	2.9 (1.8, 4.8)
Supérieur à 21.0	85 (35)	1757 (18)	5.3 (3.2, 8.8)
Durée du traitement, médiane (IQR)	14.0 (23.0)	7.0 (9.0)	-
Inférieur à 4	22 (9)	2208 (22)	Ref
4 à 7	41 (17)	3071 (31)	1.5 (9, 2.4)
8 à 18	87 (36)	3097 (31)	3.4 (2.1, 5.4)
Supérieur à 18	91 (38)	1537 (16)	9.8 (6.0, 16.0)
Nombre d'antibiotiques, médiane (IQR)	3.0 (4.0)	2.0 (2.0)	-
1	31 (13)	43744 (38)	Ref
2	54 (22)	2507 (25)	2.7 (1.8, 4.3)
3 à 4	70 (29)	2505 (25)	3.7 (2.4, 5.7)
5 et plus	86 (36)	1157 (12)	11.6 (7.7, 17.4)
Classe d'antibiotiques reçus pendant l'hospitalisation :			
Aminoglycosides	22 (9)	837 (8)	0.8 (0.2, 2.6)
Céphalosporines :			
Première et seconde génération	94 (39)	3883 (39)	2.4 (1.4, 4.0)
Troisième et quatrième génération	74 (31)	1527 (15)	3.1 (1.9, 5.2)
Clindamycine	34 (14)	876 (9)	1.7 (0.8, 3.9)
Macrolides	48 (20)	1266 (13)	1.7 (0.8, 3.4)
Metronidazole	37 (15)	981 (10)	0.3 (0.1, 0.9)
Penicillines	30 (12)	993 (10)	1.7 (0.8, 3.6)
Association d'inhibiteurs de bêta-lactamase	120 (50)	3013 (30)	2.4 (1.6, 3.7)
Quinolones	132 (55)	3471 (35)	4.5 (3.1, 6.5)
Sulfamides	33 (14)	1158 (12)	1.8 (1.0, 3.0)
Vancomycine	120 (50)	2741 (28)	2.6 (1.7, 3.9)
divers	31 (13)	772 (8)	1.4 (0.7, 2.7)

Légende :

ICD : Infection à Clostridium difficile, **CI** : intervalle de confiance, « **IQR** : écart interquartile, **réf** : référence

Risque relatif brut : tous les rapports de risques pour des variables temps-dépendant reflètent les comparaisons entre les individus avec et sans exposition à chaque événement

Doses quotidiennes : l'organisation mondiale de la santé définit le système de doses quotidiennes

IQR est défini comme la différence mathématique entre le 25ème pourcentage et le 75ème pourcentage

Divers : inclus tétracyclines, nitrofuratoine, linezolide, daptomycine, agents antituberculeux comme l'isoniazide et la rifampicine, et les autres antibiotiques non classés ailleurs

On constate que les patients ont reçu en moyenne deux antibiotiques pour un traitement moyen de sept jours durant leur hospitalisation. Les classes d'antibiotiques les plus fréquemment prescrites étaient les céphalosporines de première et de deuxième génération (39.2%), les fluoroquinolones (35.5%), les combinaisons d'inhibiteurs de bêta-lactamase (30.9%) et la vancomycine (28.2%) [17].

Dans l'ensemble, on constate une augmentation du risque d'ICD avec l'augmentation de la dose cumulée, du nombre et de la durée de prise d'antibiotiques. Avec la prise en compte des facteurs de risques de la population étudiée, les patients ayant reçu deux antibiotiques avaient un risque 2.5 fois plus élevé de présenter une ICD que ceux ayant reçu seulement un antibiotique [17]. Les résultats de cette étude sont cohérents avec les données actuelles concernant la relation entre le niveau d'exposition aux antibiotiques et le risque de développer une ICD.

En effet, un niveau d'exposition important aux antibiotiques correspond à un risque plus élevé de développer une ICD. Il existe des preuves préliminaires qui soutiennent l'existence d'un lien entre la durée de l'antibiothérapie, le nombre d'antibiotiques utilisés, le choix de l'antibiotique et le risque d'une ICD. [17].

Les scientifiques supposent que l'utilisation de larges doses d'antibiotiques ainsi qu'une durée plus longue de l'antibiothérapie entraîneraient une destruction plus importante de la flore intestinale comparée à des traitements plus courts et avec de plus faibles doses. Cependant, le taux de dégradation de cette flore dépend des concentrations d'antibiotiques obtenues, de la durée de l'exposition, de la sensibilité des microorganismes de l'intestin et de la capacité du *C. difficile* à devenir prédominant et à provoquer l'infection [17].

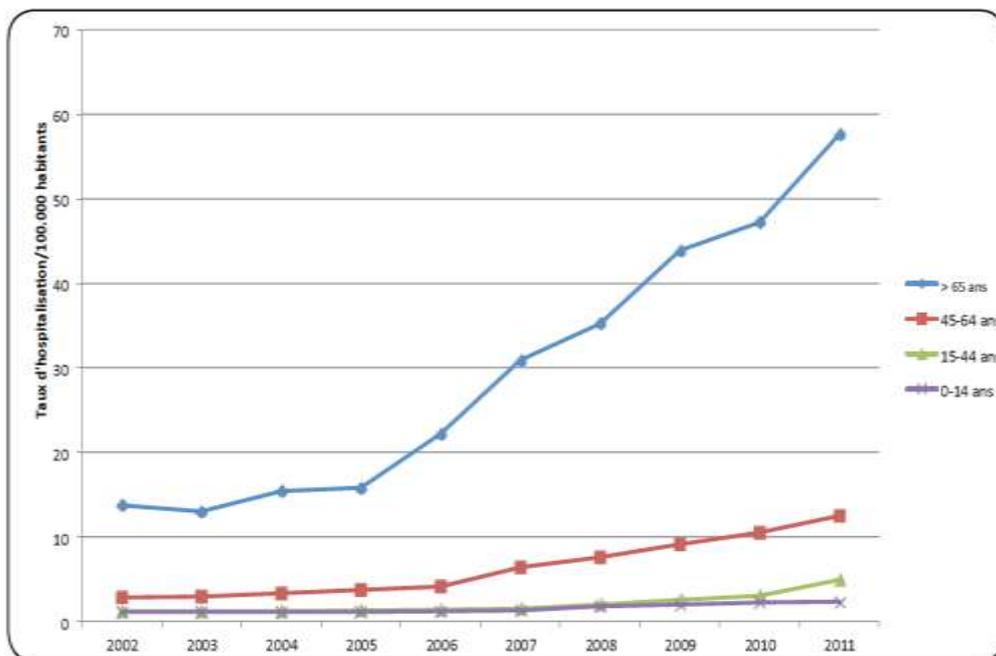
Tous les antibiotiques à l'exception des aminosides par voie parentérale peuvent entraîner une infection à *C. difficile* (ICD). Les molécules les plus à risque sont les clindamycines, les céphalosporines et l'ampicilline associée à l'acide clavulanique. En raison de leur faible activité sur la flore anaérobie du tube digestif, le cotrimoxazole, la rifampicine, les tétracyclines et les macrolides présentent moins de risque. Les nouvelles fluoroquinolones (lévofloxacine, moxifloxacine, gatifloxacine) dont le spectre d'action est élargi aux anaérobies ont un rôle de plus en plus important dans la survenue de ces infections [16].

La durée du traitement antibiotique semble augmenter le risque. Bien que les ICD surviennent le plus souvent à la suite de traitements prolongés ou après l'association d'antibiotiques, elles peuvent également avoir lieu après une dose unique, par exemple à la suite d'une antibioprophylaxie chirurgicale [16].

1.7.2. Age

L'âge est un facteur de risque majeur dans la survenue de diarrhée à *C. difficile*.

Figure 6 : Evolution de l'incidence des ICD en fonction de l'âge [18]



L'âge avancé, généralement défini comme supérieur à 65 ans, correspond à un risque accru pour les ICD. Ceci peut s'expliquer par une modification de l'écosystème digestif et des défenses de l'hôte ainsi que par la présence de comorbidités plus fréquentes et sévères [19].

En effet, chez cette population, le risque augmente par la prise d'antibiotiques, de traitements immunosuppresseurs (chimiothérapie, corticostéroïdes), et de traitements antiulcéreux au long court (inhibiteurs de pompes à protons, antiacides).

La durée du séjour hospitalier (entre 8 et 21 jours), la présence de comorbidités multiples sous-jacentes (cardiopathie, Insuffisance rénale, diabète) ainsi que leur sévérité augmentent le risque d'ICD.

Un épisode chirurgical en particulier une chirurgie gastro-intestinale, une nutrition entérale par sonde naso-gastrique ainsi que la résidence dans un établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) sont également des facteurs de risques d'ICD chez les personnes âgées [19].

1.7.3. Déficit immunitaire

L'immunodépression est également un facteur majorant le risque de survenue d'une ICD. Selon plusieurs études, après colonisation, le risque de diarrhée était 48 fois plus élevé chez les patients ayant une réponse immunitaire en immunoglobuline antitoxine A faible. De plus, après un épisode initial, le risque de rechute était plus élevé chez les patients qui avaient des taux sériques faibles d'IgM antitoxine A et d'IgG antitoxine A [20].

1.7.4. Autres facteurs

L'ensemble des facteurs entraînant une modification de la flore digestive (laxatifs, lavement barytés, antiacides, IPP, ralentisseurs du transit, chirurgie gastro-intestinale) ainsi qu'une mauvaise motilité intestinale peuvent favoriser la survenue d'une ICD.

En outre, les séjours hospitaliers prolongés et/ou répétés, la densité importante des soins, la promiscuité des patients, les admissions dans les services présentant une pression antibiotique élevée (service de réanimation, gériatrie, maladies infectieuses), les chimiothérapies anticancéreuses (méthotrexate, doxorubicine, cyclophosphamide, 5-fluouracile) sont autant de facteurs favorisant le développement d'ICD.

Tableau 3: Facteurs de risque des diarrhées associées aux antibiotiques (DAA) [21]

Facteurs liés à l'hôte
Âge extrêmes de la vie : <ul style="list-style-type: none">➤ Moins de 6 ans➤ Plus de 65 ans
Terrain : <ul style="list-style-type: none">➤ Antécédents de DAA➤ Maladie sous-jacente sévère➤ Affections digestives chroniques➤ Comorbidité➤ Immunodépression
Hospitalisation : <ul style="list-style-type: none">➤ Durée du séjour➤ Chirurgie➤ Interventions gastro-intestinales➤ Alimentation par sonde naso-gastrique

1.8 Diagnostic

Le diagnostic des ICD repose sur l'isolement de la bactérie et sur la détection des toxines à partir des selles diarrhéiques [10, 8].

1.8.1 Culture

L'isolement du *C. difficile* se réalise sur le milieu TCCA (gélose cœur cerveau additionnée de sang de cheval (5%), de taurocholate (0.1%), de cyclosérine (250mg/L) et de céfoxitine (10mg/L)) ou sur le milieu CCFA (gélose à base de céfoxitine, de cyclosérine, de fructose et de jaune d'œuf).

La culture est la technique la plus sensible et permet un typage des souches. Cependant elle est longue et ne permet pas de différencier les souches toxigènes et non toxigènes.

1.8.2 Mise en évidence de la toxine

1.8.2.1 Test de cytotoxicité

Considéré comme la méthode de référence, le test de cytotoxicité est basé sur l'observation d'un effet cytopathogène de la toxine B à partir d'un filtrat de selles en culture cellulaire.

Cette technique présente une bonne sensibilité et une bonne spécificité à condition d'effectuer les tests de neutralisation de l'effet cytopathogène par un antiserum.

La réalisation de ce test est longue (24 à 48h) et nécessite une infrastructure lourde. Cette méthode présente également un défaut de standardisation.

1.8.2.2 Tests immuno-enzymatiques

Ces tests simples et rapides (20min) permettent de dépister les toxines A et B. Les premiers tests commercialisés ne détectaient que la toxine A. Les tests détectant les deux toxines A et B simultanément sont aujourd'hui recommandés afin de mettre en évidence certaines souches A-B+.

La spécificité de ces tests est excellente (supérieure à 95%) mais leur sensibilité est plus faible par rapport au test de cytotoxicité.

1.8.2.3 Technique de biologie moléculaire

Des tests de PCR en temps réel commercialisés permettent la détection du gène de la toxine B directement à partir des selles.

Ces méthodes sont sensibles et rapides mais leur réalisation reste coûteuse.

1.8.3 Mise en évidence de *C. difficile* dans les selles

1.8.3.1 Mise en évidence de la Glutamate déshydrogénase (GDH)

La GDH est une enzyme caractéristique du *C. difficile*. Elle peut être mise en évidence par un test immuno-enzymatique directement dans les selles.

Il présente une valeur prédictive négative de plus de 99% et permet ainsi d'éliminer rapidement tous les négatifs de *C. difficile*. Cependant les résultats positifs de ce test sont à confirmer par un deuxième test recherchant les toxines.

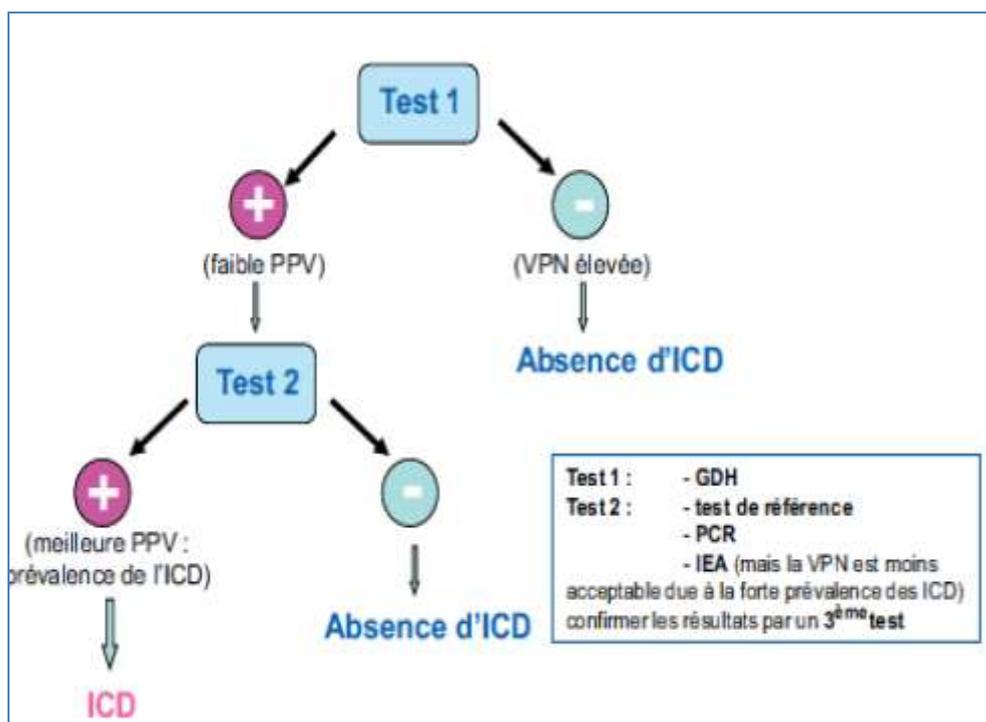
1.8.3.2 La culture toxigénique

Cette méthode de référence se fait en deux étapes. Tout d'abord on isole le *C. difficile* puis on détermine son pouvoir toxigène. La détermination du pouvoir toxigène peut se faire par le test de cytotoxicité, par les méthodes immuno-enzymatiques ou par PCR.

La culture toxigénique est une méthode très sensible pour le diagnostic d'ICD. Elle permet également le typage des souches et la réalisation d'antibiogramme. Cependant cette méthode est longue et peu spécifique (détection des porteurs asymptomatiques de souches toxigènes).

Un algorithme en deux ou trois étapes est actuellement préconisé par les recommandations américaines et européennes pour un diagnostic optimal en termes de sensibilité, de spécificité, de rapidité et de coût.

Figure 7: Algorithme de diagnostic des infections à *C. difficile* [22]



Légende : PPV : valeur prédictive positive, VPN : valeur prédictive négative, IEA : test immunoenzymatique

La recherche de *C. difficile* ne fait pas partie de la coproculture standard et se fait sur demande du clinicien. Toute diarrhée nosocomiale survenant chez un patient adulte à fortiori si elle est associée aux antibiotiques et si le sujet est âgé, devrait faire l'objet d'une recherche de *C. difficile* [22].

La société américaine de microbiologie préconise la « règle des trois jours ». Cette règle consiste à rechercher systématiquement les toxines de *C. difficile* sur les selles diarrhéiques de patients hospitalisés depuis au moins trois jours [19].

1.9 Traitement

1.9.1 Première épisode

1.9.1.1 Traitement standard

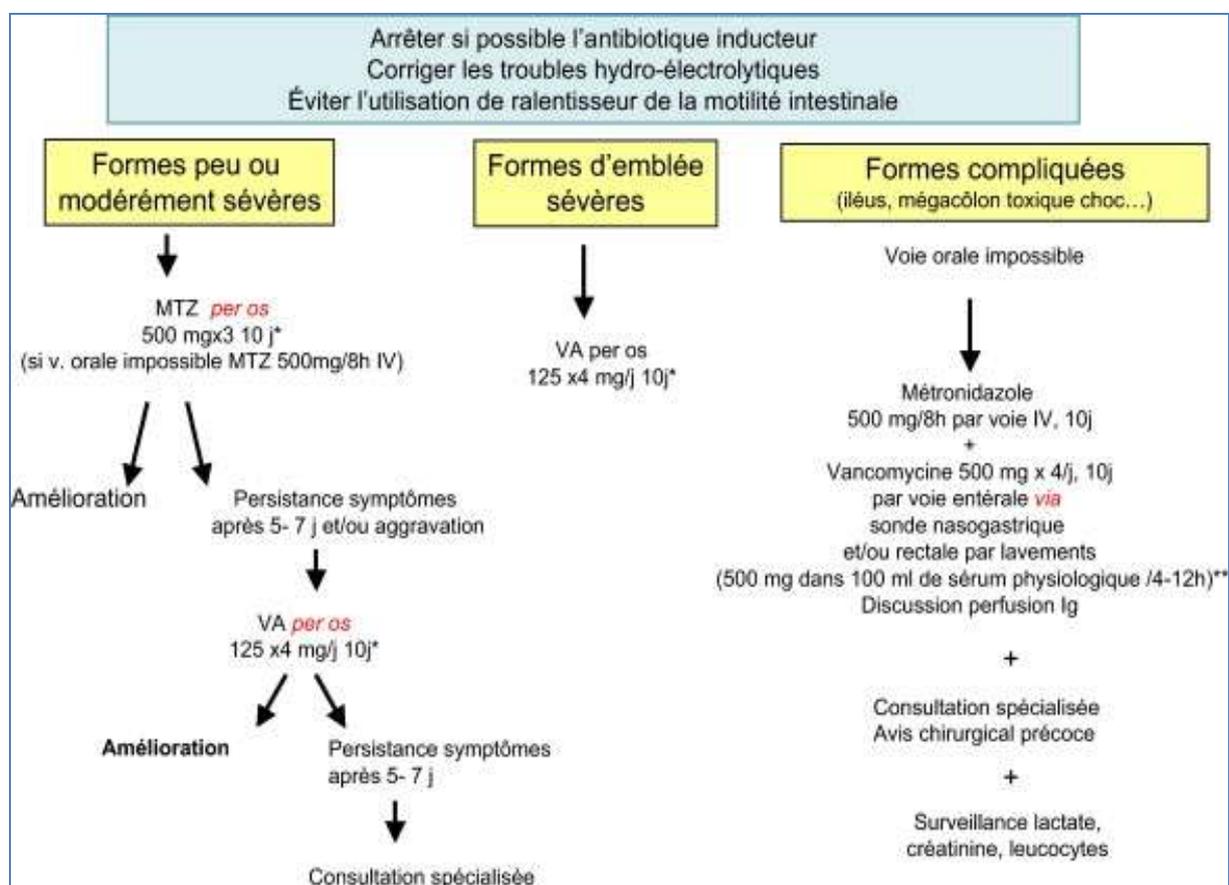
Le traitement d'infection à *C. difficile* est guidé par la clinique. Il comprend l'arrêt de tout agent ralentisseur du transit, si nécessaire l'instauration d'une réhydratation, et si possible, l'interruption du ou des antibiotiques inducteurs ou un changement de classe d'antibiotique pour une autre à moindre risque.

Le traitement des porteurs sains n'est pas indiqué.

Dans les formes bénignes, l'arrêt de l'antibiothérapie permet une amélioration clinique dans 15 à 20% des cas.

Dans le cas où les symptômes sont modérément sévères ou persistants ou s'ils surviennent chez les patients fragilisés ou si l'arrêt de l'antibiotique responsable n'est pas possible, un traitement spécifique est alors nécessaire. Il repose sur l'administration per os de métronidazole (famille des nitro-5-imidazolés), la posologie utilisée étant de 500 mg trois fois par jour pendant dix à quatorze jours ou de vancomycine (famille des glycopeptides) à la posologie de 125 mg quatre fois par jour pendant dix à quatorze jours. L'efficacité équivalente de ces deux antibiotiques est de l'ordre de 95%. Cependant, le traitement par vancomycine est plus coûteux et présente un risque plus élevé de sélectionner des bactéries résistantes aux glycopeptides. De ce fait, les indications d'un traitement par vancomycine sont limitées soit aux formes sévères, soit à ceux qui ne répondent pas au métronidazole ou qui ont une intolérance à cet antibiotique [10].

Figure 8 : Traitement d'un premier épisode ou d'une récurrence d'infection à *C. difficile* (selon les recommandations européennes) [23]



Légende : * Les recommandations américaines précisent que la durée du traitement est de 10 à 14j.** Les recommandations américaines précisent que la fréquence d'administration est toutes les 6 heures.

VA= vancomycine, MTZ= métronidazole

En cas d'échec du traitement médical ou de complications (perforation colique, mégacolon), la chirurgie doit être envisagée. Elle consiste en une colectomie. Cependant, la mortalité péri-opératoire de cette chirurgie est élevée, elle varie entre 30 et 80%.

1.9.1.2 Autres traitements antibiotiques

La teicoplanine per os à la posologie de 100 à 200mg deux fois par jour, a montré une efficacité clinique équivalente à celle de la vancomycine pour le traitement d'ICD.

La bacitracine présente une bonne activité in vitro sur *C. difficile*. Une efficacité de l'ordre de 83% a été démontrée avec un taux de récurrences de plus de 34%.

L'acide fusidique per os (0,5 à 1g par jour pendant sept à dix jours). Selon une étude européenne, cet antibiotique semble entraîner davantage de récurrences (30%) et d'effets secondaires (31%) en comparaison avec d'autres molécules pour le traitement d'ICD.

La tigécycline en intraveineuse, a été utilisée avec succès chez quatre patients souffrant de formes sévères et réfractaires à un traitement par métronidazole et vancomycine.

La fidaxomicine est un nouvel antibiotique macrocyclique, à spectre d'action étroit indiqué dans le traitement des ICD. Elle est commercialisée en France sous le nom de Difclir® depuis novembre 2012 à la posologie per os de 200mg deux fois par jour pendant dix jours. La fidaxomicine est aussi efficace que le traitement de référence en termes de guérison initiale de l'ICD mais diminue significativement le risque de rechute précoce. Sa tolérance est comparable à celle de la vancomycine. Cependant son coût reste relativement élevé et il n'existe pas de données sur le traitement des ICD sévères [24].

1.9.1.3 Traitements antibiotiques en cours d'évaluation [23]

Rifaximine : phase III terminée

Nitazoxanide (antiparasitaire) : en phase III

Ramoplanine : phase III en cours

CB183,315 : phase II en cours

1.9.1.4 Les résines échangeuses d'ions

Les résines échangeuses d'ions (colestipol, cholestyramine) vont fixer les toxines du *C. difficile* sans modification de la flore digestive. Mais leur efficacité clinique reste faible (68% pour la cholestyramine) [25].

1.9.1.5 Mesures de préventions

Il existe un certain nombre de recommandations pour la prévention des ICD. Elles permettent de diminuer la dissémination du germe et de réduire la prévalence des infections en milieu hospitalier.

La prévention de la transmission des ICD s'appuie sur [16] :

- L'utilisation de manière prudente et rationnelle des antibiotiques
- La réalisation d'audits réguliers des prescriptions d'antibiotiques
- La formation des équipes soignantes sur l'épidémiologie des infections à *C. difficile*
- L'isolement géographique des patients avec ICD et incontinence fécale ou si possible tout patient ayant une diarrhée à *C. difficile* jusqu'à la fin de la diarrhée
- La réalisation d'un lavage simple ou antiseptique des mains après contact avec un patient de long séjour ou son environnement proche potentiellement contaminé
- Le port de gants pour tous soins auprès des patients ayant une diarrhée à *C. difficile*
- L'utilisation de thermomètres à usage unique
- L'individualisation du petit matériel de soins (stéthoscopes, brassards) pour les patients ayant une diarrhée à *C. difficile* ou la désinfection soigneuse entre chaque patient
- La désinfection des chambres de patients ayant une diarrhée à *C. difficile* avec un produit sporicide tel que l'hypochlorite de sodium
- La levée d'isolement dès que le patient n'est plus diarrhéique.

Il existe plusieurs documents fournissant des informations aidant à la mise en place des mesures de prévention et de contrôle de la diffusion des ICD dont [19] :

« Les recommandations de bonnes pratiques de soins en EHPAD : prévention des infections en EHPAD », disponible sur le site internet du ministère (http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/reco_soinsehpad/rbps_ehpads.pdf)

Une fiche technique « Mesures de prévention et de maîtrise de la diffusion des ICD dans les établissements de santé » disponible sur le site du CCLIN Paris-Nord (http://www.cclinparisnord.org/ACTU_DIVERS/Mesure-sClostridium2.pdf)

Un guide « Hygiène et prévention du risque infectieux dans les EHPAD » accessible sur le site du Centre interrégional de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN Ouest) (http://www.cclinouest.com/pages/maisons_retraite.htm)

1.9.2 Récidives

Après l'arrêt de l'antibiothérapie par métronidazole ou vancomycine, on observe une rechute ou récurrence d'ICD dans 10 à 20% des cas. Elles surviennent entre une à trois semaines et jusqu'à plusieurs mois après l'arrêt de l'antibiothérapie.

Les facteurs de risque de récurrences incluent l'âge supérieur à 65 ans, les concentrations sériques faibles en immunoglobulines antitoxines, une récente chirurgie abdominale, une hospitalisation prolongée, et le séjour dans une unité de soins intensifs.

Le traitement d'une rechute est identique au traitement initial.

L'administration de probiotiques peut être utilisée en complément des traitements standards ou dans la prévention des rechutes. Les probiotiques sont des microorganismes ingérés vivants capables d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte. En effet, ils ont un rôle dans la restauration de la flore digestive préalablement déséquilibrée et favorisent la régression des diarrhées. Il s'agit le plus souvent de bactéries ou de levures telles que *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L casei*, *Saccharomyces*.

Pour les patients présentant des rechutes multiples et posant un véritable problème thérapeutique plusieurs approches existent et peuvent être envisagées.

Un traitement par vancomycine à dose décroissante a été proposé (125mg quatre fois par jour pendant la première semaine, puis deux fois par jour pendant la deuxième semaine, puis une fois par jour pendant la troisième semaine, puis une fois par jour un jour sur deux la quatrième semaine et enfin 125mg trois fois par semaine pendant deux semaines). Ce schéma thérapeutique est fondé sur l'éradication progressive et totale des formes sporulées qui retournent à l'état végétatif au fur et à mesure que les concentrations intraluminales en antibiotiques diminuent et sont éliminées lors d'un nouveau « pulse » d'antibiotiques [23].

D'autres stratégies thérapeutiques doivent être envisagées pour les patients présentant un tableau clinique d'ICD sévère, réfractaire et récidivant. L'utilisation d'anticorps monoclonaux antitoxines A et B, la vaccination ou la transplantation de flore fécale sont les nouvelles voies à explorer.

2. Nouvelles stratégies thérapeutiques

Devant l'échec des thérapies standard, il est clair que de nouvelles approches thérapeutiques sont nécessaires. Elles vont principalement cibler les personnes les plus à risques telles que les personnes âgées, à plus forte raison en cas d'exposition aux antibiotiques ou en cas de réponse immunitaire insuffisante contre *C. difficile*. Plusieurs pistes sont envisagées comme l'administration d'anticorps antitoxines de *C. difficile*, la vaccination ou encore la transplantation de flore fécale.

2.1 Approche immunologique

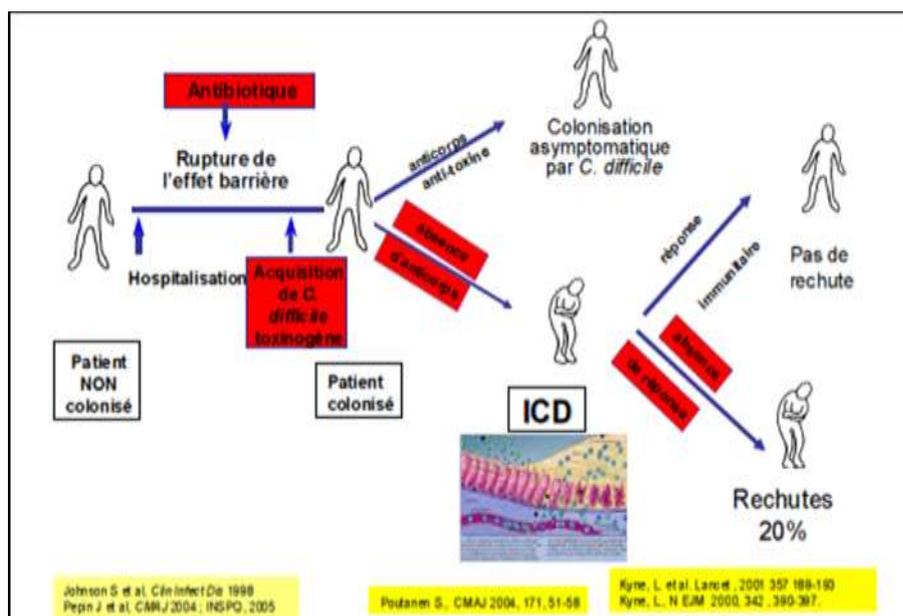
2.1.1 Corrélation entre la réponse immunitaire et la clinique

C. difficile est la cause la plus fréquente de diarrhées nosocomiales. L'infection est causée par l'action des toxines A et B émises par les souches toxigènes de *C. difficile*. La réponse immunitaire dirigée contre les toxines influence fortement le degré de sévérité de l'infection allant du porteur asymptomatique à la CPM pouvant être mortelle. De plus cette réponse immunitaire influence également la tendance à développer des récives parfois multiples [26].

Plusieurs études ont permis de mettre en évidence la présence d'anticorps circulant (IgA, IgM, IgG circulants) dirigés contre les toxines A et B de *C. difficile* dans le sérum humain. Il existe également des IgA sécrétées dans la lumière intestinale ayant la capacité de neutraliser l'activité cytopathogène des toxines A et B. Cependant la présence et le taux de ces anticorps sont variables selon les individus.

Une corrélation a été clairement établie entre la présence d'anticorps et une évaluation clinique favorable.

Figure 9 : Physiopathologie de l'infection à *C. difficile* [26]



La perturbation de la flore intestinale par les antibiotiques va permettre la colonisation du patient par *C. difficile*. La personne possédant des anticorps antitoxines ou celui qui en développera ne présentera aucun symptôme de l'infection. Cependant, si la personne n'en possède pas ou si elle n'en développe pas, alors la colonisation provoquera un épisode de diarrhée. Dans le décours de celui-ci, si une réponse immunitaire se développe, elle permettra au patient de guérir et lui évitera des rechutes ultérieures. En absence de réponse, les rechutes pourront se développer.

2.1.2 Indicateur de protection immunitaire

Chez un patient, il apparaît que le meilleur indicateur d'une protection immunitaire est le taux d'IgG circulant antitoxine A, même si les taux d'IgA et IgM circulants ou les IgA sécrétoires intestinales montrent également une corrélation. La capacité d'un patient à résister ou non à l'infection provoquée par les souches toxigènes peut être reflétée par la mesure de ces Immunoglobulines.

De ces observations, deux stratégies thérapeutiques peuvent être envisagées : l'immunisation passive des patients présentant un tableau clinique grave ou récidivant par l'administration d'immunoglobulines spécifiques dirigées contre les toxines ou l'élaboration d'un vaccin [27].

2.1.3 Les différents traitements

2.1.3.1 Les immunoglobulines polyvalentes en intraveineuse (IVIG)

Les immunoglobulines polyvalentes sont composées à 97% d'IgG correspondant à la présence d'une grande diversité d'anticorps dirigés contre divers agents infectieux. Elles sont préparées à partir de pool de plasma provenant d'un grand nombre de donneurs [28].

Une étude rétrospective menée de novembre 2003 à janvier 2005, a permis d'évaluer la réponse d'un traitement par immunoglobulines sur des patients atteints de diarrhée à *C. difficile* réfractaire, récurrente ou sévère. Sur 264 patients positifs aux toxines de *C. difficile*, 14 ont reçu des Ig polyvalentes en intraveineuse (Flebogamma®) [28].

L'âge moyen des 14 patients était de 79 ans et ils présentaient tous des comorbidités. Ils ont reçu une injection de Flebogamma® à la posologie de 150 à 400mg par kg (deux patients ont reçu deux doses après trois semaines, un pour cause de réponse insuffisante à la première injection et l'autre pour cause de récurrence). Les patients ont tous poursuivi leur traitement antibiotique par vancomycine ou métronidazole.

Les 14 patients ont bien toléré la perfusion d'IVIG sans effets secondaires.

Tableau 4 : Profils des 14 patients traités par IVIG [28]

Patient	Age	Durée des symptômes avant IVIG (en jours)	Antibiothérapie de la DCD avant IVIG (durée en jours)	Doses (mg/kg)	Réponse à l'IVIG	résultats
1	84	1 ^{er} épisode : 1-18 Récidive : 16	Met 8 ; Vanc 18 ; Vanc 10 ; Met 6	200	Résolution en 9 jours	pas de récurrence après 13 mois
2	58	Episode : 1-21 Récidive : 16 Récidive : 28	Met 7 ; Vanc 14; Met 17 ; Vanc 22 Met 5	300	Résolution en 7 jours	pas de récurrence après 12 mois
3	72	1 ^{er} épisode : 22	Met 10 ; Vanc 12	200	Résolution en 12 jours	2 récurrences (2 et 4 semaines après résolution du 1 ^{er} épisode) résolues par 10 jours de Vanc ; Nouvelle DCD 7 mois plus tard dû à l'antibiothérapie d'une pneumonie et résolue à l'arrêt de l'antibiothérapie
4	78	1 ^{er} épisode : 22	Met 7 ; Vanc 7 Met 3 ; Sac 3	300	Résolution en 7 jours	pas de récurrence après 13 mois
5	76	1 ^{er} épisode : 7	Vanc 7	200	Décès 17 jours après IVIG ; selles négatives aux toxines de CD mais persistance de la diarrhée	Décès dû à une septicémie et une défaillance multi-viscérales
6	76	1 ^{er} épisode : 26	Met 9 ; Vanc 10	400	Résolution partielle après 7 jours	Récurrence après 3 semaines et deuxième administration d'IVIG avec résolution partielle ; décès 2 mois après dû à une pneumonie et une DCD réfractaire
7	85	1 ^{er} épisode : 56	Met 10 ; Vanc 14 ; Vanc 10 ; Sac 10 ; Vanc 13	150	Résolution en 12 jours	Récurrence après 1 semaine et résolue par 10 jours de Van ; pas de nouvelle récurrence
8	54	1 ^{er} épisode : 11	Vanc 11 ; Sac 11	400 (2)	Résolution en 26 jours (2 doses)	pas de récurrence après 11 mois
9	80	1 ^{er} épisode : 1-3 Récurrence : 24	Vanc 10 Met 14	400	Décès 11 jours après IVIG	Décès dû à une septicémie associée à une défaillance multi-viscérales et d'un lymphome ; diarrhée persistante
10	66	1 ^{er} épisode : 1-5 Récurrence : 8	Vanc 10	400	Résolution en 2 jours	Récurrence 10 jours après le première épisode et résolue par 10 jours de Vanc ; décès 6 mois plus tard dû à un cancer de la vessie
11	84	1 ^{er} épisode : 45	Met 7 Met 16 Vanc 12 Vanc 6	400	Décès 18 jours après IVIG	Décès dû à une septicémie associée à une démence avec persistance de la diarrhée
12	80	1 ^{er} épisode : 3	Met et Vanc 3	400	Décès 7 jours après IVIG	Décès dû à une pneumonie associé à une défaillance multi-viscérales et d'un lymphome gastrique avec persistance de la diarrhée
13	80	1 ^{er} épisode : 1-7 Récurrence : 22	Vanc 10 Met 14	400	Résolution en 10 jours	aucune récurrence pendant 6 mois
14	91	Episode : 1-14 Récurrence : 33	Vanc 10 Met 10 ; Van 11	400	Résolution en 13 jours	aucune récurrence pendant 4 mois

Légende : IVIG = injection intraveineuse d'immunoglobuline ; Vanc= vancomycine ; Met=métronidazole ; Sac=*Saccharomyces boulardii* ; DCD= diarrhée à *C.difficile*

Sur les 14 patients traités par IVIG, 9 (64%) ont répondu favorablement (5 sur les 6 présentant une récurrence, 4 sur les 6 présentant une DCD réfractaire). La fréquence et la consistance des selles sont retournées à la normale chez ces 9 patients en 10 jours.

Sur les 9 patients répondants, 6 d'entre eux présentaient une DCD sévère dont 2 avec mégacolon.

Parmi les patients répondeurs, trois ont fait une rechute dans le mois suivant l'IVIG qui a été résolue par une cure de dix jours de Vancomycine. Un patient a eu un nouvel épisode diarrhéique sept mois après l'IVIG causé par l'antibiothérapie d'une pneumonie. Cette diarrhée s'est résolue à l'arrêt de l'antibiothérapie.

Sur les 14 patients, 4 sont décédés dans les 3 semaines suivant la perfusion d'IVIG. 2 sont décédés d'une défaillance multi viscérale et d'un lymphome 7 et 11 jours après l'IVIG. Un patient est décédé d'une septicémie 17 jours après l'IVIG et le dernier est décédé d'une pneumonie 18 jours après l'IVIG. Le taux de mortalité chez les patients atteints de DCD est élevé en raison de comorbidités souvent présentes chez eux. Cela explique la mortalité élevée dans la cohorte des patients de l'étude.

Cette étude étant rétrospective, la mesure des anticorps sériques antitoxines A et B de *C. difficile* n'a pas pu être possible. De plus, la présence de ces anticorps ne peut être confirmée dans le Flebogamma®. Cependant, il a été constaté dans des analyses antérieures que neuf préparations d'IVIG provenant de trois laboratoires et de trois lots différents contenaient des anticorps neutralisant les toxines A et B de *C. difficile*.

L'injection intraveineuse d'Ig bien que très coûteuse peut offrir une nouvelle approche thérapeutique pour ceux souffrant de CPM sévère ou DCD récurrente. La réponse aux IVIG est relativement lente, elle est en moyenne de dix jours dans cette étude, ce qui est similaire aux cas décrits dans des études précédentes. De plus, on ne connaît pas la dose optimale d'Ig nécessaire à injecter pour traiter la DCD ou à quel moment répéter l'injection en cas de réponse insuffisante.

A ce jour, il est difficile de savoir si les IVIG utilisées seules conduisent à l'amélioration de la diarrhée ou s'il y a une synergie d'effets entre les IVIG éliminant les toxines et l'antibiothérapie neutralisant le *C. difficile*.

Les doses IgG dirigées contre le *C. difficile* varient de manière significative dans les solutions d'Ig polyvalentes standard proposées en clinique. C'est pourquoi ont été développés des anticorps monoclonaux dirigés contre les toxines A et B du *C. difficile* qui vont se lier à eux avec une haute affinité et les neutraliser par ce biais.

2.1.3.2 Les Anticorps monoclonaux

Une étude de phase II multicentrique randomisée en double aveugle versus placebo portant sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux dirigés contre les toxines A (CDA1) et B (CDB1) dans la prévention secondaire des ICD a été publiée [29].

L'étude porte sur des patients sélectionnés dans trente sites d'études différents répartis aux Etats-Unis et au Canada entre juin 2006 et avril 2008.

200 patients traités soit par métronidazole soit par vancomycine ont participé à cette étude. 101 patients ont reçu une perfusion contenant les anticorps (Ac) antitoxines A et B à la dose de 10mg par kg de poids. Les 99 autres patients ont reçu le placebo.

Les critères d'inclusions étaient les suivants : patients âgés de plus de 18 ans, et présentant une diarrhée associée à un test positif des toxines de *C. difficile* dans les selles dans les quatorze jours précédant le début de l'étude. Tous présentaient une diarrhée au début de l'étude.

Tableau 5 : Caractéristiques démographiques et cliniques des patients lors de leur inclusion à l'étude [29]

caractéristiques	Anticorps monoclonaux (N=101) (%)	Placebo (N=99) (%)	Valeur P
Moyenne d'âge : en année	63	64	ns
Sexe féminin : en nombre	61 (60)	71 (72)	ns
Patients hospitalisés : en nombre	50 (50)	52 (53)	0.67
Traitement par métronidazole ou vancomycine avant le début de l'étude en jours :			
En moyenne	3	3	ns
Valeurs extrêmes	1-10	1-14	ns
Score de l'indice de Horn indiquant la sévérité de la maladie sous-jacente ¹ : en nombre	2.1	2.2	ns
Antibiothérapie de l'ICD : en nombre			
Métronidazole	71 (70)	77 (78)	ns
Vancomycine ²	30 (30)	22 (22)	ns
Sévérité de l'ICD ³ :			
Sévérité de la maladie au début de l'étude :	44 (44)	36 (36)	ns
Nombre moyen de selles liquides par jour			
Au moment du dépistage	8.2	6.5	0.008
Au moment de la perfusion	7.9	6.3	0.01
Plus d'un épisode précédent l'ICD : en nombre	29 (29)	32 (33)	ns
Détection de la souche « 027 » ⁴ : en nombre	25 (32)	19 (26)	ns

1- Classement de la sévérité des maladies sous-jacentes des patients selon l'index de Horn modifié allant de 1 à 3. Plus le score est élevé, plus la sévérité est importante.

2- Sont inclus dans cette catégorie 7 patients du groupe recevant les Ac et 4 patients du groupe recevant le placebo ayant reçu également du métronidazole le jour de la perfusion.

3- La sévérité de la maladie est définie comme la survenue d'au moins 5 selles liquides par jour pendant 2 jours consécutifs.

4- Les données sont manquantes pour 24 patients du groupe recevant les Ac et pour 25 patients du groupe recevant le placebo.

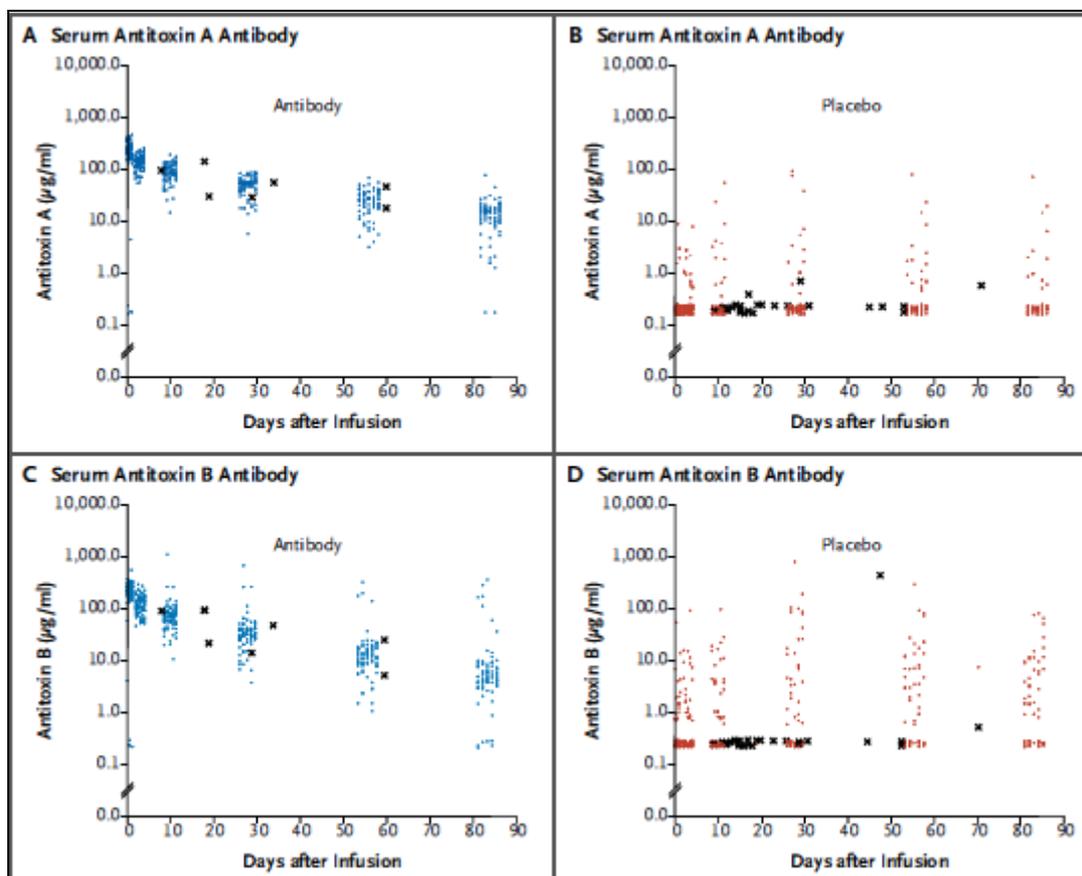
Le premier critère évalué est la récurrence de l'ICD. Elle est définie par un nouvel épisode de diarrhée associé à un nouveau test positif de toxines de *C. difficile* dans les selles après résolution de l'épisode initial et après l'arrêt de l'antibiothérapie.

Le deuxième critère prend en compte le temps de résolution de l'épisode initial de l'ICD et l'échec de l'antibiothérapie (mis en évidence par un changement

d'antibiotique ou par la persistance de la diarrhée à quatorze jours de traitement antibiotique).

Les taux sériques d'anticorps antitoxines A et B ont été mesurés de façon régulière durant l'étude chez tous les patients.

Figure 10 : Anticorps sériques dirigés contre les toxines A et B [29]



Les différents graphes montrent les taux sériques d'anticorps antitoxines A et B mesurés au cours de l'étude dans les deux groupes. Les « x » représentent la ligne d'interpolation des taux d'Ac antitoxines A et B durant l'épisode de rechute chez les 32 patients ayant présenté une récurrence d'ICD (7 dans le groupe d'Ac et 25 dans le groupe placebo).

Chez les patients recevant le placebo, chez qui le taux d'Ac représente leur réponse endogène au cours du temps, la majorité d'entre eux avait des taux d'Ac bas ou non détectables contre les deux toxines. Ce taux reste faible lors des récurrences d'ICD.

Les résultats de l'étude ont montré que le taux de récurrence était de 7% dans le groupe recevant les anticorps et de 25% dans le groupe recevant le placebo. Chez les patients infectés par la souche épidémique « 027 », le taux de récurrence était de 8% dans le groupe recevant les anticorps et de 32% dans le groupe recevant le

placebo. Chez les patients ayant eu plus d'un épisode d'ICD, le taux de récurrence était de 7% dans le groupe recevant les anticorps et de 38% dans l'autre groupe. Ainsi, le traitement par les anticorps monoclonaux semble efficace quelle que soit l'antibiothérapie mise en place (Métronidazole ou Vancomycine), qu'il s'agisse ou non de la souche épidémique « 027 » de *C. difficile* et que ce soient des patients présentant un premier épisode de récurrence ou de multiples récurrences.

Cependant, on note qu'il n'y pas de différence significative entre les deux groupes sur la durée et la sévérité de l'épisode initial de diarrhée, ainsi que sur le nombre d'hospitalisation.

La perfusion d'anticorps antitoxines A et B est bien tolérée et n'entraîne pas plus d'effets indésirables que le placebo.

En conclusion, les résultats de cette étude sont cohérents avec les études antérieures qui établissent une corrélation entre les taux d'Ac sériques antitoxines A et B de *C. difficile* et la protection contre les ICD. L'administration d'Ac monoclonaux antitoxines A et B de *C. difficile* combinée à un traitement antibiotique réduit le risque de récurrence d'ICD. Cependant, d'autres études devront être menées afin de confirmer ces résultats de phase II.

2.1.3.3 Vaccination

Les laboratoires Sanofi-Aventis ont récemment mis au point un vaccin fondé sur l'utilisation d'une anatoxine. Après avoir franchi les essais cliniques de phase I, ce vaccin est actuellement en phase II pour évaluer son efficacité dans la prévention des récurrences d'ICD après un premier épisode.

Cette étude de phase II implique 600 patients britanniques et américains atteints d'ICD. Ils étaient répartis dans quatre groupes, trois groupes recevant le vaccin et le quatrième recevant un vaccin placebo. Tous les patients recevront en plus du vaccin, une antibiothérapie standard [30].

2.2 Bactériothérapie

2.2.1 Généralités

L'infection à *C. difficile* est une maladie gastro-intestinale causée en partie par la perturbation de la flore intestinale appelée aussi microbiote intestinal qui constitué de 300 à 500 espèces bactériennes. Ce microbiote intestinal a de nombreuses fonctions notamment celle de protection contre l'invasion d'agents pathogènes.

L'administration d'antibiotiques modifie l'équilibre de la flore intestinale, ce qui va permettre au *C. difficile* d'infecter l'intestin. L'épisode initial d'ICD est traité par métronidazole ou vancomycine après l'arrêt si possible de l'antibiothérapie responsable de la perturbation de la flore. Jusqu'à 35% des patients traités connaîtront une récurrence des symptômes après amélioration de l'épisode initial. Et

jusqu'à 65% de ces patients vont développer un modèle chronique de la maladie avec des ICD récurrentes. Celles-ci peuvent être traitées par l'administration décroissante (taux de récurrence de 31%) ou pulsée (taux de récurrence de 14%) de métronidazole ou de vancomycine.

Devant ces taux importants de récurrences, la bactériothérapie (également appelée transplantation de microbiote fécal) est une alternative thérapeutique au traitement standard. Elle consiste à restaurer l'écologie microbienne et l'homéostasie de l'intestin en y réintroduisant une flore bactérienne saine, prélevée dans les selles provenant de donneurs sains. C'est une approche non pharmacologique nécessitant peu de moyens techniques [31].

La première transplantation humaine de microbiote intestinal fut réalisée en 1958 pour traiter une colite pseudomembraneuse fulminante. Depuis, la transplantation fécale a été expérimentée sur les différentes pathologies digestives telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, le syndrome de l'intestin irritable et la constipation chronique. Aujourd'hui, la principale indication est l'infection à *C. difficile* réfractaire et récurrente [32].

Depuis ces dernières années, de nombreuses études multicentriques ont été menées. Le traitement des ICD récurrentes par transplantation de microbiote fécal (TMF) a démontré un taux de guérison primaire de 91% (définie comme la disparition des symptômes sans récurrences dans les 90 jours suivants la TMF), et un taux de guérison secondaire de 98% (définie par la résolution des symptômes après une cure de vancomycine avec ou sans nouvelle TMF) [33]. Bien que ces observations soient spectaculaires du point de vue des résultats, elles ne reposent que sur un faible nombre de patients traités (entre 1958 et 2011, on note 317 patients traités répartis dans 27 études) [31]. Sur les 317 patients traités, 61 % étaient des femmes, l'âge moyen était de 53 ans avec des âges réels allant de 2 à 95 ans.

La bactériothérapie présente une variété de protocoles pour son application. La voie d'administration, le choix du donneur, la relation entre le donneur et le receveur, la préparation du donneur, la préparation de l'échantillon instillé sont autant de paramètres pouvant différer d'une étude à l'autre.

2.2.2 Indications

La TMF est indiquée en cas d'ICD récurrente avec au moins trois épisodes de diarrhée d'intensité légère à modérée et après l'échec d'un traitement par vancomycine à doses décroissantes pendant 6 à 8 semaines associé ou non à une antibiothérapie (à base de rifaximine ou la nitazoxanide). Elle est également indiquée en cas d'ICD récurrente avec au moins deux épisodes de diarrhée grave ayant entraîné une hospitalisation et associée à une morbidité importante.

La TMF est suggérée en cas d'ICD modérée ne répondant pas au traitement standard par vancomycine pendant une semaine.

Enfin, elle peut être envisagée devant une ICD grave ou fulminante ne répondant pas au traitement standard après 48h.

Dans tous les cas, la TMF doit être réalisée en fonction de la gravité et de l'évolution de l'ICD afin de prévenir toutes nouvelles détériorations cliniques.

De nombreux patients présentent des comorbidités, mais ces dernières sont rarement considérées comme des critères d'exclusion à une TMF. En 2011, Duplessis et son équipe ont rapporté dans leur étude une récurrence rapide d'une infection à *C. difficile* réfractaire compliquée par une maladie de Crohn sévère [33].

Cependant, un risque accru d'effets indésirables doit être considéré chez les patients sous immunosuppresseurs y compris ceux recevant de fortes doses de corticoïdes, sous chimiothérapie et ceux recevant tout agent biologique réduisant le taux de lymphocytes. Le risque d'effets indésirables est également augmenté chez les patients atteints de cirrhose décompensée du foie, de SIDA au stade avancé, ainsi que chez les patients ayant récemment reçu une greffe de moelle osseuse, et chez tout patient dont le système immunitaire est déficient [34].

2.2.3 Le donneur

2.2.3.1 Choix du donneur

Le choix du donneur varie selon les études. Le donneur peut être un partenaire intime, un membre de la famille, un colocataire ou encore un donneur bénévole n'ayant aucun lien avec le receveur.

2.2.3.1.1 DONNEUR AYANT UN LIEN AVEC LE RECEVEUR :

De manière générale, les cliniciens choisissent d'utiliser les dons de flore fécale de personnes vivants sous le même toit que le receveur. En effet, la promiscuité entre les deux parties (et notamment en cas de contact intime) permettrait de partager les facteurs de risques infectieux. De plus, le don d'un partenaire intime diminue fortement le risque de transmission d'agents infectieux supplémentaires auxquels le destinataire n'a pas été préalablement exposé au niveau du tube digestif.

Compte-tenu de la virulence du *C. difficile* et de la capacité de ses spores à survivre dans l'environnement, l'utilisation d'un donneur de la même famille que le receveur infecté peut théoriquement être considérée comme un facteur de risque défavorable. Cependant, les données disponibles à ce jour démontrent que la transplantation de don de selles contenant *C. difficile* n'est pas corrélée à la réussite ou à l'échec de la procédure de transplantation de microbiote fécal. Sans doute, parce que le microbiote équilibré transféré conserve sa capacité à réprimer la pathogénicité du *C. difficile*.

2.2.3.1.2 DONNEUR SANS LIEN AVEC LE RECEVEUR :

Il existe plusieurs études dans lesquelles on a utilisé la flore fécale provenant de donateurs bénévoles [Hamilton et al. 2012] ; [Kassam et al. 2012]. Dans leurs travaux, Kassam et son équipe, ont traité 27 patients par bactériothérapie en utilisant les dons de matières fécales de deux donateurs bénévoles sans lien avec les patients receveurs. Ils ont obtenu la disparition des symptômes chez 88% d'entre eux.

Par un procédé de laboratoire standardisé, l'université du Minnesota Fairview Medical Center s'est distinguée en créant une banque de matières fécales congelées provenant de donateurs bénévoles. Selon une étude, on note qu'il n'y a pas de différence significative entre les patients ayant reçu un échantillon de matières fécales standardisé et ceux ayant reçu un échantillon de matières fécales fraîches. Le centre des maladies digestives de Sydney en Australie effectue la majorité de leurs procédures de transplantation de microbiote fécal avec des dons fécaux standardisés.

Le choix de ce type de donneur a plusieurs avantages. Premièrement, la sélection du donneur concerne exclusivement les cliniciens et non plus le patient receveur. Deuxièmement, les coûts de dépistage sont considérablement réduits. En effet, les examens sur le donneur ne sont réalisés qu'une seule fois. Avec ce type de procédure, un échantillon de matières fécales peut être utilisé pour traiter plusieurs malades. Nous n'avons plus la relation « un donneur pour un receveur ». Toutefois, l'utilisation de dons fécaux standardisés reste moins fréquente que celui de dons fécaux frais [33].

Il est important de souligner que quelle que soit la relation entre le donneur et le receveur, une sélection rigoureuse du donneur est recommandée.

2.2.3.2 Dépistage du donneur

Le risque potentiel de transmission de maladies virales, d'infections bactériennes ou parasitaires est une préoccupation importante. Actuellement, il n'existe pas de directives en matière de dépistage des donateurs précédant la transplantation fécale. Les procédures de sélection du donneur sont basées sur l'analyse des antécédents médicaux au cours d'un entretien médical avec le donneur, ainsi que sur l'analyse des tests sanguins et des tests sur selles. La transplantation fécale nécessite également un consentement du donneur et du receveur [35].

2.2.3.2.1 CRITERES D'EXCLUSION ABSOLUE [34]

a. Risque de transmission d'un agent infectieux :

Afin de détecter les risques éventuels de transmission d'agent infectieux, l'entretien avec le donneur est particulièrement important à réaliser. Il existe des questionnaires préétablis. **Voir annexe 1**

- Infection au VIH, à l'hépatite B ou C connus

- Exposition connu au VIH ou à une hépatite (dans les 12 mois précédents)
- Comportement sexuel à risque élevé (rapport sexuel avec une personne porteur du VIH ou d'une hépatite, rapport sexuel entre hommes, rapport sexuel contre de l'argent ou de la drogue)
- Utilisation de drogues illicites
- Tatouage ou piercing réalisé dans les six derniers mois
- Incarcération ou antécédents d'incarcération
- Maladie contagieuse connue (maladie des voies respiratoires hautes)
- Facteurs de risque pour la maladie de Creutzfeldt-Jakob
- Voyage récent (dans les six derniers mois) dans une région du monde où les maladies diarrhéiques sont endémiques ou dans une région du monde à risque élevé de contracter la diarrhée du voyageur.

b. Comorbidités gastro-intestinales :

- Antécédents de maladie inflammatoire de l'intestin.
- Antécédents de syndrome de l'intestin irritable, de constipation idiopathique chronique ou de diarrhée chronique.
- Antécédents de cancer gastro-intestinal ou polypose connues

c. Facteurs pouvant modifier la composition du microbiote intestinal :

- Antibiothérapie dans les trois mois précédents.
- Utilisation de médicaments immunosuppresseurs (inhibiteurs de calcineurine, glucocorticoïdes...etc)
- Agents néoplasiques

d. Autres :

- Ingestion récente d'un allergène dont le receveur est allergique

2.2.3.2.2 CRITERES D'EXCLUSION RELATIVE [34]

- Antécédents de chirurgie gastro-intestinale majeure (pose d'un bypass)
- Syndrome métabolique

- Maladie auto-immune (sclérose en plaque, maladie des tissus conjonctifs)
- Maladies atopiques (asthme, eczéma)
- Syndrome de douleurs chroniques (syndrome de fatigue chronique, fibromyalgie)

2.2.3.2.3 TESTS SANGUINS DU DONNEUR [35]

- Numération de la formule sanguine
- Test des fonctions hépatiques
- Sérologie de l'hépatite A, B et C
- Sérologie du VIH I et II
- Autres sérologies pouvant être recherchées à la demande du clinicien : CMV, HTLV I et II, *Treponema pallidum*

2.2.3.2.4 TESTS REALISES SUR LES SELLES DU DONNEUR [35]

- Bactéries les plus recherchées : *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *Escherichia coli spp.*,
- Autres bactéries pouvant être recherchées à la demande du clinicien : *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Candida albicans*
- Toxines A et B de *Clostridium difficile*
- Parasites pouvant être recherchés à la demande du clinicien : *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis*, *Ascaris lumbricoides*

La sélection des donneurs et les examens biologiques permettant de détecter d'éventuelles maladies transmissibles doivent être effectués. Cependant, pour chaque cas il est important de considérer l'état clinique du malade et de prendre en compte les délais d'attente des résultats des examens biologiques.

Dans le cas où le donneur est un partenaire intime, il est possible d'écourter la procédure de transplantation fécale en réduisant le nombre d'examens.

2.2.3.3. La préparation du donneur

Pour s'assurer que le donneur puisse fournir une quantité de selles suffisante le jour du don, il peut être utile de lui administrer un laxatif doux (dans certaines études, les cliniciens ont utilisé du citrate de magnésium ou de l'hydroxyde de magnésium) [33].

Cinq jours avant la procédure de transplantation de microbiote fécal (TMF), le donneur devra exclure tous les aliments auxquels le bénéficiaire peut-être allergique. Un suivi médical du donneur est mis en place entre le dépistage et le moment du don de selles afin de détecter l'apparition de symptômes d'infection (fièvre, diarrhées, vomissements) [34].

2.2.4. Préparation de la suspension fécale à transplanter

La quantité de matières fécales recueillie et nécessaire pour la TMF varie en fonction de la voie d'administration choisie par le clinicien. La période de collecte doit être la plus proche possible de la procédure de transplantation. L'intervalle entre l'obtention des selles et son administration au patient varie entre les études (24h, 6h ou immédiatement avant l'intervention). Les quantités de selles importantes pour une instillation par lavement ou coloscopie nécessitent de commencer la collecte 24h avant l'intervention.

L'utilisation de don de selles provenant d'une banque de matières fécales nécessite une décongélation préalable. On peut signaler qu'il existe un risque de modification de la flore fécale lors des procédures de congélation et de décongélation.

L'échantillon de selles obtenu est mélangé à un liquide. Ce liquide est généralement du sérum physiologique pour injection intraveineuse sans conservateur ou de l'eau stérilisée. Dans une étude de 2007, Wettstein et son équipe ont ajouté du psyllium à la solution saline utilisée pour mélanger l'échantillon de flore fécale pour obtenir une consistance plus liquide. En 1999, Gustafsson et son équipe ont utilisé du lait de vache pasteurisé comme liquide.

Le liquide choisi et l'échantillon de selles sont mélangés au vortex jusqu'à obtention d'une suspension de selles liquide et homogène. Cette dernière est filtrée à travers un filtre à café standard ou un tampon de gaze. Cette étape permet d'éliminer les grosses particules et les débris qui pourraient obstruer les systèmes tubulaires d'un coloscope, d'une seringue, d'un endoscope ou d'une sonde naso-gastrique. Le volume final doit être limité afin de conserver l'échantillon de matières fécales le plus intact possible et de s'assurer une concentration en flore bactérienne élevée. La suspension prête peut être conservée au frais dans un récipient hermétiquement fermé [34,36].



1. Préparation de la suspension fécale à transplanter en ajoutant les selles fraîches du donneur à du sérum physiologique puis filtration de la suspension plusieurs fois à travers une gaze [37].



2. Injection de la suspension fécale à travers le tube du coloscope [37].



3. Suspension fécale déposée sur la paroi interne du côlon [37].

2.2.5 Préparation du receveur

Les malades recevant la suspension fécale sont prétraités par de la vancomycine par voie orale avant la procédure de transplantation afin de réduire la charge de *C. difficile* sous forme végétative. La posologie et la durée du traitement sont variables selon les études. On peut aller de 250mg trois fois par jour pendant quatre jour à 500mg deux fois par jour pendant sept jours et ceci jusqu'à 48h à 24h avant l'intervention. Dans certaines études, la métronidazole et la rifampicine sont ajoutées à l'antibiothérapie pré-transplantation.

Pour les patients recevant la suspension par lavement ou coloscopie, un lavage par voie orale peut être effectué par un purgatif (polyéthylène glycol) le jour de la procédure.

L'étude de Silverman et son équipe a inclus au traitement pré-transplantation l'administration de *Saccharomyces boulardii* qui s'est poursuivi jusqu'à 60 jours après l'intervention.

Il est possible d'administrer aux patients un anti-diarrhéique (la loperamide) immédiatement après la procédure de transplantation et encore 6h plus tard dans le but de maximiser le temps de contact de la suspension fécale avec la muqueuse colique du bénéficiaire [36].

2.2.6. Voie d'administration

La première TMF réalisée chez l'homme a été faite par lavement rectal (Eiseman et al., 1958). Depuis d'autres voies d'administrations ont été utilisées. Elles varient en fonction des différentes études menées. La procédure de TMF consiste à transférer dans le tractus gastro-intestinal d'un malade souffrant d'ICD un don de matières fécales par coloscopie, par lavement rectal ou par cathéter gastrique, duodéal ou jéjunal. A ce jour, il n'existe pas de consensus sur la voie d'administration la plus appropriée à utiliser.

2.2.6.1 Partie inférieure du tractus gastro-intestinal

2.2.6.1.1 PAR COLOSCOPIE

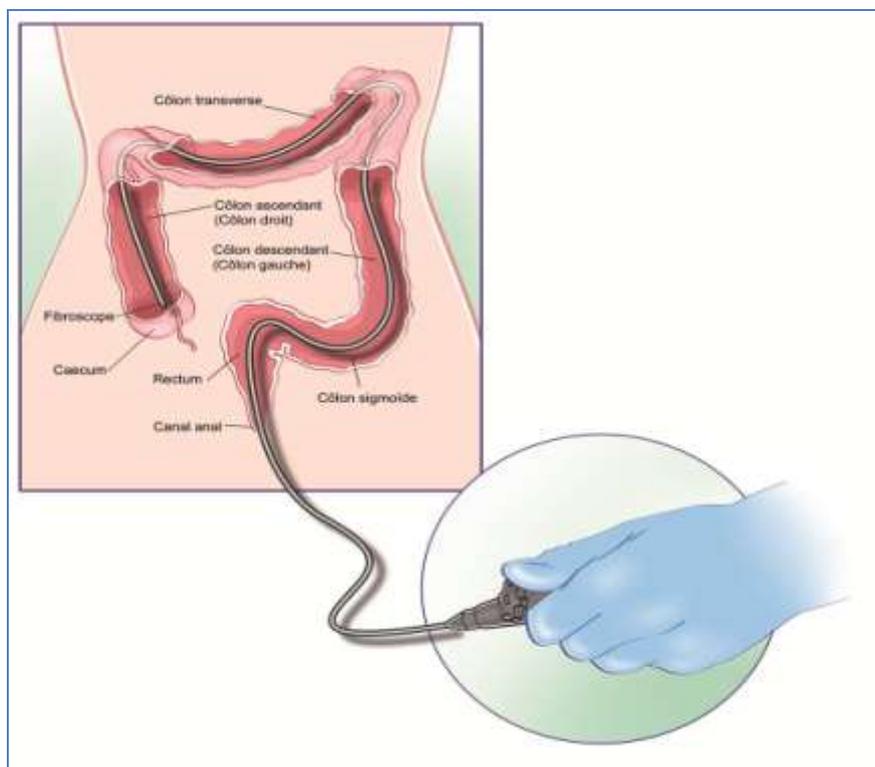
Dans le cadre de la bactériothérapie, la voie d'administration la plus couramment utilisée est celle par coloscopie.

L'échantillon de matières fécales est broyé pour obtenir une bouillie épaisse qu'on liquéfie par addition d'une solution saline ou aqueuse. La suspension est ensuite filtrée pour s'assurer que les grosses particules qui pourraient obstruer le canal de l'endoscope soient bien supprimées.

A l'aide d'un coloscope équipé, on va transplanter la suspension fécale au niveau de la partie inférieure du tube proximal du tractus gastro-intestinal. Le tube est lubrifié et inséré par voie anale. Il passe à travers l'anus dans le rectum, le côlon jusqu'à l'iléon

terminal pour rejoindre à chaque fois que cela est possible le caecum (jonction entre l'intestin grêle et le côlon).

Figure 11 : Progression du fibroscope lors d'une coloscopie [38]



Dans la plupart des études utilisant la coloscopie, la procédure est généralement similaire. **(Voir tableau 6 ci-dessous)**

Cependant, on note quelques différences dans la quantité de matières fécales utilisée, dans le choix et le volume du diluant utilisé et dans le volume de suspension délivré. Le volume du liquide mélangé à la matière fécale varie entre 200 et 300ml. La quantité de matière fécale utilisée va en moyenne de 5 à 300g mais dans certains cas toute la matière fécale fournie est utilisée.

Tableau 6 : Bactériothérapie par coloscopie [33]

Etude	Méthode	Seconde cure (ratio)	Echantillon de selles	Volume du liquide de dilution en ml	Liquide de dilution	Volume administré en ml
[Lund-Tonnesen et al., 1998]	17-coloscopie, 1-gastroscopie	15/18	5-10g	DI	DI	DI
[Persky and Brandt, 2000]	Coloscopie	1/1	DI	DI	Solution saline	500
[Wettstein et al., 2007]	Coloscopie puis lavement au jour 5, 10, et 24	15/18	200-300g	200-300	Solution saline et psyllium	DI
[Hellemans et al., 2009]	Coloscopie	1/1	DI	DI	DI	DI
[Arkkila et al., 2010]	Coloscopie	34/37	20-30ml	100-200	Solution aqueuse	DI
[Khoruts et al., 2010]	Coloscopie	1/1	25g	300	Solution saline	250
[Garborg et al., 2010]	2-coloscopie/38-gastroscopie	2/2	50-100g	250	Solution saline	200
[Yoon et Brandt, 2010]	Coloscopie	12/12	10-20ml	1000	Solution saline	250-400
[Rohlke et al., 2010]	Coloscopie	19/19	Total fourni	200-300	Solution saline	200-350
[Girotra et al., 2011]	Coloscopie/entérocopie (non précisé)	3/3	DI	DI	DI	DI
[Brandt et al., 2012]	Coloscopie	76/77	Quelques cas du total fourni	Varié	Solution saline	300-700
[Mellow et Kanatzar, 2011]	Coloscopie	12/13	Total fourni	Assez pour fluidifié	Solution saline	300-600
[Mattila et al., 2011]	Coloscopie	66/70	20-30ml	100-200	Solution aqueuse	100
[Hamilton et al., 2012]	Coloscopie	41/43	50g	250	Solution saline	220-240
[Kelly et al., 2012]	Coloscopie	24/26	6 à 8 càs	100-1000	Solution aqueuse ou saline	500-960

Légende : DI : données insuffisantes

Le lieu de dispersion de la suspension fécale varie en fonction des études. Elle peut être dispersée en totalité au niveau du caecum. Elle peut être dispersée progressivement dans l'ensemble du côlon durant le retrait de la sonde. Dans une étude menée par Hamilton et son équipe en 2012, la suspension a été répartie dans les zones du côlon les plus exposées aux pathologies.

Procédure d'une transplantation fécale par coloscopie : **annexe 3**

La transplantation du microbiote fécal par coloscopie présente de nombreux avantages. Elle permet au clinicien de visualiser les zones de la muqueuse colique qui ont été particulièrement endommagées par l'ICD. Elle permet également d'identifier d'éventuelles complications ou comorbidités. Par cette méthode, il est possible de recouvrir l'ensemble du côlon de suspension fécale. Les risques d'une coloscopie sont minimes. De plus, le coût d'une transplantation ne dépasse pas le coût général d'une coloscopie.

Dans l'ensemble des méthodes évaluées, la rechute d'infection à *C. difficile* était quatre fois plus élevée lorsque moins de 50g de selles étaient infusées. Indépendamment du contenu des selles, des suspensions à grand volume se sont révélées plus efficaces dans la réduction du risque d'échec du traitement post-

transplantation. On note un taux de résolution de 97% lorsque le volume utilisé était supérieur ou égal à 500ml contre un taux de résolution de 80% lorsque le volume utilisé était supérieur ou égal à 200ml. Ainsi, la TMF par coloscopie est bien adapté à la transfusion de ces suspensions à grand volume [33].

2.2.6.1.2 PAR LAVEMENT RECTAL

De 1958 à 2012, on comptabilise une douzaine d'études dans lesquelles la TMF a été effectuée par lavement rectal (**voir tableau 7 ci-dessous**). Dans ces différentes études, on note quelques variations relatives à la méthode et à la quantité de don de selles utilisée, au choix et au volume du liquide de dilution choisi. La quantité de matières fécales utilisée varie entre 5 et 300g. Le choix du liquide de dilution est hétérogène (solution saline, solution aqueuse, lait de vache homogénéisé).

Tableau 7 : Bactériothérapie par lavement rectal [33]

Etude	Méthode	commentaires	Seconde cure (ratio)	Echantillon de selles (g)	Volume du liquide de dilution (ml)	liquide
[Eiseman et al., 1958]	Lavement	CPM 1-3 instillations	4/4	DI	DI	DI
[Fenton et al., 1974]	Lavement	CPM	1/1	DI	DI	DI
[Bowden et al., 1981]	Lavement	1 patient inclus (1/16 patients : ICD confirmée)	1/1	DI	DI	Solution saline
[Schwan et al., 1983]	Lavement	2 instillations	1/1	DI	450	DI
[Tvede et Rask-Madsen, 1989]	Lavement		1/1	50	500	Solution saline
[Paterson et al., 1994]	Tube rectal		7/7	200	200	Solution saline
[Gustafsson et al., 1999]	Lavement	5 ICD confirmées, échec de la TMF : 2 instillations de don fécal congelé	5/6	5-10	DI	Lait de vache homogénéisé
[Borody et al., 2001]	Lavement	MICI et ICD	1/1	200-300	200-300	DI
[Jorup-Ronstrom et al., 2006]	Lavement		4/5	DI	30	DI
[You et al., 2008]	Lavement	ICD fulminante	1/1	45	300	Solution saline
[Louis, 2008]	Cathéter rectal	Lavement à domicile, 1-3 instillation	43/45	300-500	1000-1500	DI
[Silverman et al., 2010]	Lavement	A domicile,	7/7	50	250	DI
[Kassam et al., 2012]	Lavement	1 lavement, 2 nd lavement si persistance des symptômes 7 jours post-TMF	25/27	150	300	Eau stérile

Légende : DI : données indéterminées, MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

Les TMF par lavement ou coloscopie sont similaires. Elles ne nécessitent que des modifications minimales du protocole liées au lieu d'instillation de la suspension fécale. La préparation de la suspension fécale est similaire aux deux méthodes. Cependant, la TMF par lavement rectal requiert de plus petits volumes.

La TMF par lavement rectal a l'avantage d'être moins invasive et moins coûteuse que celle par coloscopie. Ainsi, elle peut être facilement répétée pour un traitement en plusieurs instillations sur une durée déterminée. De plus, elle ne nécessite pas de compétences spécifiques contrairement aux procédures coloscopiques.

Dans certaines études, les cliniciens ont choisi de transplanter le microbiote fécal par coloscopie suivi par un ou plusieurs lavements.

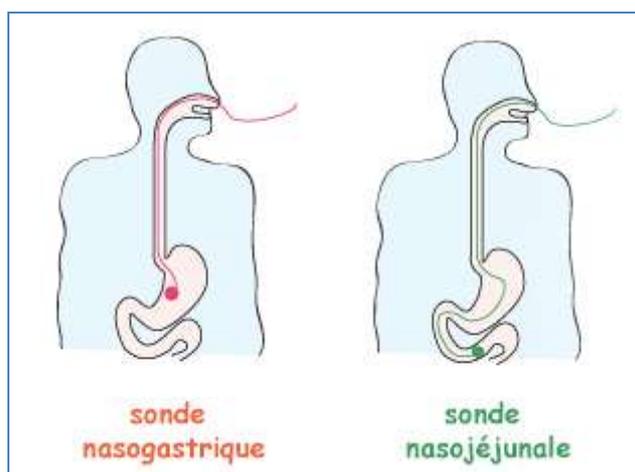
La TMF par la partie inférieure du tractus gastro-intestinal (voie rectale) a un taux de guérison de l'ordre de 95.4% avec un taux rechute de 4.8%. Généralement, elle semble bien être acceptée par les patients.

2.2.6.2 Partie supérieure du tractus gastro-intestinal

2.2.6.2.1 ADMINISTRATION PAR SONDE

La deuxième méthode de transplantation de microbiote fécal pouvant être utilisée est celle passant par la partie supérieure du tractus gastro-intestinal. Elle peut être réalisée à l'aide d'une sonde naso-gastrique (pénétrant par une narine et arrivant dans l'estomac), par sonde duodénale (pénétrant par une narine et arrivant dans le duodénum) ou par gastroscopie (sonde pénétrant par une narine ou la bouche et débouchant dans l'estomac). Plus rarement, la transplantation peut se faire à l'aide d'une sonde jéjunale (pénétrant par la bouche et débouchant dans le jéjunum).

Figure 12 : Position des sondes naso-gastrique et naso-jéjunale [39]



La sonde est placée juste avant l'instillation. On vérifie sa bonne position par radiographie. Après avoir délivré la suspension, on rince la sonde par une solution saline à 9% puis on la retire. Le patient peut reprendre ses habitudes alimentaires immédiatement après. Dans la majorité des cas, une seconde TMF est réalisée.

**TABLEAU 8 : BACTERIOTHERAPIE PAR LA PARTIE SUPERIEURE DU TRACTUS GASTRO-
INTESTINAL [33]**

Etude	Méthode	Seconde cure (ratio)	Echantillon de selles en g	Volume du liquide de dilution en ml	Liquide de dilution	Volume administré en ml
[Lund-Tonnesen et al., 1998]	17 Coloscopies, 1 Gastroskopie	15/18	5-10g	DI	DI	DI
[Aas et al., 2003]	Voie naso-gastrique	15/16	30g	50-70ml	Solution saline	25ml
[Nieuwdorp et al., 2008]	Jéjunale	7/7	60-120g	300-400ml	Solution saline	DI
[MacConnachie et al., 2009]	Voie naso-gastrique	11/15	30g	150ml	Solution saline	30ml
[Rubin et al., 2009]	Voie naso-gastrique	14/16	30g	50-70ml	Solution saline	30-60ml
[Garborg et al., 2010]	2 coloscopies, 38 gastroscopies	31/38	50-100g	250ml	Solution saline	200ml
[Russell et al., 2010]	Voie naso-gastrique (MICI, patient pédiatrique)	1/1	30g	50-70ml	Solution saline	25ml
[Duplessis et al., 2011]	Voie naso-gastrique (maladie de Crohn compliquée par une ICD)	1/1	70g	200ml	Solution saline	Totalité

Comme pour les méthodes de TMF par voie rectale, la préparation de l'échantillon du don fécal est la même mais nécessite de plus faibles volumes. L'approche naso-gastrique nécessite une suspension fécale de 50-400ml (majoritairement 50-70ml) de solution saline préparée à partir de 30 à 100g de selles avec un volume de suspension réellement instillé de 25 à 60ml. L'approche par gastroscopie demande des volumes plus importants (50-100g de selles, 250ml de solution saline et 200ml de suspension instillée).

En 2011, 23% de toutes les procédures de TMF ont été faites par sonde naso-gastrique ou gastroscopie. Dans le traitement des ICD, on note une disparition des symptômes dans 76% des cas.

2.2.6.2.2 ADMINISTRATION PAR GELULES

Lors du congrès américain des maladies digestives de 2013, le Docteur Thomas et son équipe ont présenté une étude préliminaire dans laquelle la TMF se faisait par l'administration en gélules d'un concentré de bactéries fécales. Le traitement consiste pour le patient à ingérer 24 à 38 gélules de 0.47ml en association à un antibiotique (la vancomycine). Les gélules sont préparées le jour du traitement à partir de 100g de selles de donneurs mises en solution saline,

centrifugées, décantées et remises en suspension. Les gélules sont ensuite remplies de 0.47ml de suspension par pipetage puis scellées.

Cette technique reste expérimentale et n'est pas encore agréée par la FDA (agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux) [40].

Chaque méthode de transplantation fécale est caractérisée à la fois par des avantages et des inconvénients. A ce jour, il n'y a pas de consensus sur lequel les cliniciens peuvent s'appuyer pour connaître la méthode qui offre le plus d'avantages.

La coloscopie permet d'atteindre le caecum par rapport au lavement qui permet une instillation jusque l'angle splénique gauche du côlon. Elle offre également une visibilité de la pathologie concernée. De plus, elle permet l'instillation de grands volumes de suspension fécale dans l'ensemble du côlon. La coloscopie présente un faible risque de perforation colique. Cependant, ce risque est augmenté chez les patients souffrant de mégacôlon toxique en raison de l'inflammation des muqueuses du côlon touchées. Chez ces patients, on va réduire ce risque en traitant par lavement.

La TMF par lavement a l'avantage de ne demander qu'un appareillage simple, facile à manier et peu coûteux. Pour le patient, cette procédure est moins invasive et permet d'éviter une éventuelle anesthésie par rapport à une coloscopie. Etant donné que les instillations multiples sont souvent nécessaires avec les lavements, cette procédure pourrait s'avérer coûteuse. De plus, les TMF par lavement ont été associées à un certain nombre d'accidents (fuites rétrogrades de la suspension fécale au niveau du rectum) conduisant à un potentiel danger biologique supplémentaire et pouvant être ressenties comme une expérience potentiellement désagréable pour le patient [36].

Dans les différentes études, la TMF par la partie supérieure du tractus gastro-intestinal a été moins favorisée ; probablement en raison de la localisation d'instillation de la suspension fécale au niveau gastrique au lieu des sites du côlon directement touchés par l'ICD. De plus, par cette méthode il existe une potentielle dégradation de l'échantillon fécal par les sécrétions gastriques et pancréatico-biliaire et un risque d'aspiration. Cependant, cette voie est particulièrement adaptée pour les patients présentant des comorbidités sévères entraînant des contre-indications à la coloscopie telle que la maladie de Crohn.

La bactériothérapie a été réalisée par sonde naso-gastrique chez un enfant de deux ans [41].

Bien que les taux de guérison de la TMF par la partie supérieure du tractus gastro-intestinal restent élevés (76%), ils restent plus faibles que ceux par la partie inférieure du tractus gastro-intestinal [31].

La poursuite des recherches cliniques est importante pour déterminer la procédure d'instillation fécale la plus efficace pour restaurer la protection de la flore intestinale tout en maintenant un risque minimal d'effets indésirables et en réduisant

les coûts. En attendant, chaque patient doit être évalué individuellement afin de déterminer la meilleure procédure de soins.

2.2.7 Résultats

En termes d'efficacité de traitement, l'ensemble des études menées à ce jour ont rapporté des résultats prometteurs indiqués par des taux de réponses élevées.

Une publication de 2011 a permis d'effectuer une revue systématique de la littérature traitant la transplantation fécale chez l'homme comme thérapie pour les ICD récurrentes et les CPM.

Sur les 317 patients traités dans les 27 séries de cas et de rapports sélectionnés entre 1958 et 2011, la TMF a été très efficace, montrant la résolution de la maladie dans 92% des cas (89% après un seul traitement et 5% après une nouvelle cure). La résolution étant définie comme la disparition complète des symptômes cliniques durant la période de suivi post-transplantation fécale. Seul 4% des patients ont présenté une rechute des symptômes.

Cependant l'étude met en évidence une variation de l'efficacité de la transplantation fécale en fonction de la voie d'instillation, de la relation entre donneur et receveur, le volume de préparation administré et du traitement prescrit préalablement au patient.

En effet, la TMF effectuée à partir d'un donneur apparenté (membre de la famille, conjoint, partenaire sexuel) montrait un taux de résolution légèrement plus élevé (93%) par rapport à celle effectuée à partir de donneurs non apparentés (84%). Les taux de résolution ont été supérieur avec des suspensions de selles préparées avec de l'eau (98.5%) par rapport à celles préparées avec du sérum physiologique (86%). De plus les résolutions ont augmenté avec le volume de la préparation administrée [31].

Il est important de noter que la durée de suivi post-transplantation fécale est très variable entre les différents rapports de cas sélectionnés. Elle est parfois non renseignée et peut s'étendre à plusieurs années. Les résultats de cette étude ne distinguent donc pas les effets à court et à long terme.

Une autre étude de 2012 menée dans cinq centres médicaux répartis à travers les États-Unis a permis d'étudier l'efficacité à long terme de la transplantation de microbiote fécal chez les personnes atteintes d'ICD récurrentes [42].

Dans cette étude, les 77 patients interrogés ont reçu la transplantation fécale par coloscopie pour le traitement d'une ICD récurrente datant d'au moins trois mois. Ils ont tous été contactés dans le but de remplir un questionnaire en 36 points sur les données pré et post transplantation fécale ainsi que sur les données concernant les donneurs sollicités. Le temps entre la transplantation fécale et la collecte des données était en moyenne de 17±14 mois (extrêmes : 3-68 mois) avec 45% des patients interrogés ayant subi la transplantation dans les 12 mois avant la collectes des données.

Dans cette étude, la procédure de TMF était similaire parmi toutes les institutions. Elle a été réalisée par coloscopie chez tous les patients sélectionnés. Ils ont reçu une antibiothérapie jusqu'à deux à trois jours avant la transplantation fécale. Ils ont également reçu une préparation de l'intestin la veille de la procédure. Les selles des donneurs ont été recueillies quelques heures avant la procédure et utilisées dans les 8h. Les patients inclus dans l'étude présentaient tous une ICD récurrente ne répondant pas au traitement standard. L'ensemble de ces patients a subi une TMF dans les trois mois avant la collecte des données.

On peut signaler que les critères d'exclusion des donneurs de selles varient légèrement entre les études sélectionnées.

La durée moyenne des symptômes avant la transplantation fécale était de 11 mois et les patients avaient présenté un échec à en moyenne cinq traitements antimicrobiens classiques. Les résultats de l'étude comprenaient les taux de guérison primaire définis comme la résolution de la diarrhée sans récurrence dans les 90 jours suivants la transplantation fécale et les taux de guérison secondaire définis comme la résolution des symptômes après une cure supplémentaire de vancomycine avec ou sans nouvelle transplantation fécale.

Résultats à court terme :

A court terme, les données de l'étude montrent que la réponse à la transplantation fécale a été rapide et associée à un soulagement des symptômes immédiat chez plusieurs patients. On a constaté une diarrhée résolue dans 82% des cas et améliorée dans 17% des cas dans un délai de cinq jours après la transplantation fécale. Le taux de guérison primaire était de 91% avec un taux de guérison secondaire de 98% [42].

Sept patients n'ont pas répondu ou ont présenté une récurrence de l'ICD dans les 90 jours et plus suivant la transplantation fécale [42].

On constate ainsi en peu de temps des résultats rapides et efficaces.

Résultats à long terme :

Les patients ont présenté un intervalle de temps de soixante-huit mois sans récurrence de l'ICD après la TMF.

Ce qui permet de suggérer que la transplantation fécale peut fournir une guérison durable pour le traitement de l'ICD [42].

2.2.8 Effets indésirables

Dans l'ensemble des études menées à ce jour, aucun effet indésirable incombant directement à la TMF n'a été relevé [42]. La TMF est généralement bien tolérée.

Les effets indésirables constatés sont principalement liés à la voie d'administration choisie. En effet, on a pu constater des maux de gorge suite à la pose des sondes naso-gastriques, un inconfort rectal à la suite des coloscopies ainsi que des flatulences, des nausées, une constipation ou des ballonnements. Une complication pourrait être la prolifération bactérienne dans l'intestin grêle après instillation gastrique ou duodénale de matières fécales. Chez les patients présentant des signes de motilité intestinale diminuée, l'infusion de matières fécales via le tractus gastro-intestinal supérieur doit être évitée [43].

Bien qu'à ce jour, les différentes études publiées montrent des résultats très prometteurs sans risque majeur, il est important de rester vigilant. Des essais contrôlés ont besoin d'être menés pour établir l'efficacité et l'innocuité de la transplantation fécale pour le traitement des ICD récidivantes.

2.2.9 Les limites

2.2.9.1 Limites des résultats

L'interprétation des résultats de la TMF pour le traitement des ICD récurrentes reste limitée par de nombreux points.

En effet les procédures de transplantation fécale ne sont pas standardisées dans les différentes études menées. La plupart des patients a reçu un traitement ou une préparation avant la transplantation tels qu'une cure d'antibiotiques ou un lavage intestinal, ce qui rend difficile l'estimation des effets de la TMF seule.

La TMF reste limitée par le faible nombre de patients et par leur manque d'hétérogénéité par étude.

En outre, les rechutes peuvent être dues à une ré-infestation par une nouvelle souche de *C. difficile* plutôt qu'une rechute de l'infection initiale. La distinction entre ces deux événements après la bactériothérapie peut présenter un intérêt clinique [31].

2.2.9.2 Limites à son application

La crainte de transmission d'agents pathogènes du donneur au receveur et l'acceptation du patient peuvent limiter l'utilisation de la bactériothérapie.

2.2.9.2.1 FACTEUR D'AVERSION

L'expression de « Transplantation fécale » est susceptible de causer le refus des patients à une telle alternative de traitement.

En effet, elle peut provoquer un sentiment de dégoût. Il est donc important d'expliquer la procédure au patient et de choisir les termes les moins repoussants. Ainsi il serait plus approprié d'utiliser des expressions comme : « traitement bactérien pour restaurer la flore intestinale » lorsqu'on propose ce type de thérapie aux patients.

2.2.9.2.2 RISQUE DE TRANSMISSION D'AGENTS PATHOGENES

Les selles sont composées de substances biologiquement et métaboliquement riches et actives. Ainsi la transmission de bactéries pathogènes ou très résistantes aux antibiotiques via la transplantation fécale est préoccupante [42] et doit faire l'objet d'une attention particulière. D'où la mise en place des tests de dépistage des donneurs de selles. Mais cela ne fait que diminuer le risque, il ne l'élimine pas.

Ainsi, afin de limiter le risque de transmission d'agents pathogènes, de nouvelles études pourraient se tourner vers la caractérisation des espèces bactériennes les plus efficaces pour lutter contre l'implantation digestive du *C. difficile*. Le but étant de pouvoir préparer in vitro ces mélanges microbiens pour pouvoir proposer aux malades des infusions de greffons bien contrôlés, plus sûres et mieux acceptées du point de vue psychologique.

Au Royaume-Uni, une étude menée en 2012 sur le modèle murin a permis d'identifier un mélange simple de six bactéries pouvant guérir des souris infectées par *C. difficile* [44].

Pour ce faire, les chercheurs ont repiqué les selles d'une souris saine dans un bouillon nutritif dans le but de réduire la complexité de la flore et pour enrichir les bactéries facilement cultivables. Par la suite, un échantillon composé de dix-huit espèces bactériennes provenant de ces dérivés de selles a été cultivé. Des souris infectées par *C. difficile* ont été alors traitées par différentes combinaisons de mélanges bactériens de ces 18 espèces cultivées.

Au final, un mélange efficace et reproductible de six bactéries a pu être identifié. Il a permis la résolution des symptômes des souris infectées par *C. difficile*. Ce mélange se compose de *Staphylococcus warneri*, *Enterococcus hirae*, *Lactobacillus reuteri*, *Anaerostipes sp. nov.*, *Bacteroidetes sp. nov.* et *Enterorhabdus sp. nov.* On constate que ce mélange de bactéries est phylogénétiquement diversifié comprenant des espèces anaérobies obligatoires et facultatives. Ces espèces semblent être des habitants communs de l'intestin des souris saines.

On constate également que d'autres combinaisons de mélange ou l'utilisation individuelle des espèces ont eu un impact négligeable. En conséquence, il est important de sélectionner les bonnes bactéries et de les combiner de la façon la plus optimale.

Une autre étude plus récente a tenté la même expérience chez l'homme. En effet, une équipe de chercheurs canadiens est parvenue à réaliser une préparation de substituts de selles à partir de cultures bactériennes intestinales purifiées provenant des selles d'un donneur sain pour traiter l'infection à *C. difficile* chez l'homme [45].

Le substitut de selles fut développé par culture de bactéries diverses extraites des selles d'un donneur sain. Soixante-deux isolats bactériens différents ont été

récupérés. Ces isolats ont ensuite été identifiés par séquençage ADN. L'antibiogramme de ces isolats a également été réalisé. Parmi ces soixante-deux isolats, les chercheurs en ont sélectionnés trente-trois relativement faciles à cultiver pour la formation finale du substitut de selles.

On peut voir ci-dessous la composition du substitut de selles.

Tableau 9 : Composition du substitut de selles [45]

Classification la plus précise de l'isolat	% d'identification avec la classification la plus proche	Abondance relative dans le substitut final
<i>Acidaminococcus intestinalis</i>	100	+++
<i>Bacteroides ovatus</i>	99,52	+
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> (deux souches différentes)	99,79	++
	99,79	++
<i>Bifidobacterium longum</i> (deux souches différents)	99,86	+++
	99,16	+++
<i>Blautia producta</i>	96,43	+
<i>Clostridium cocleatum</i>	91,92	+
<i>Collinsella aerofaciens</i>	93,73	+
<i>Dorea longicatena</i> (deux souches différents)	99,62	+
	99,6	+
<i>Escherichia coli</i>	99,8	+
<i>Eubacterium desmolans</i>	94,9	+
<i>Eubacterium eligens</i>	98,15	+++++
<i>Eubacterium limosum</i>	97,05	+
<i>Eubacterium rectale</i> (quatre souches différents)	99,59	+++++
	99,6	+++++
	99,19	+++++
	99,53	+++++
<i>Eubacterium ventriosum</i>	100	++
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	99,17	+++++
<i>Lachnospira pectinoshiza</i>	95,22	+
<i>Lactobacillus casei/paracasei</i>	99,47	+
<i>Lactobacillus casei</i>	99,74	+
<i>Parabacteroides distasonis</i>	99,45	++
<i>Raoultella sp.</i>	99,4	+
<i>Roseburia faecalis</i>	99,65	++
<i>Roseburia intestinalis</i>	100	++
<i>Ruminococcus torques</i> (deux souches différentes)	99,15	+++
	99,29	+++
<i>Ruminococcus obeum</i> (deux souches différentes)	94,89	+
	94,69	+
<i>Streptococcus mitis</i>	99,79	+

Ce substitut de selles a été administré par coloscopie chez deux patients présentant les symptômes d'une ICD récurrente et réfractaire aux traitements standards. Il en résulte une amélioration de l'état clinique des deux patients avec absence des symptômes de l'infection pendant six mois après la transplantation.

L'étude montre que la flore intestinale des patients traités a adopté une partie des caractéristiques du substitut de selles tout en conservant une partie de leur microbiote original. Avant le traitement, les bactéries contenues dans le substitut de selles étaient initialement rares dans les échantillons de selles des patients (inférieur à 7%). Cependant, leur taux a augmenté de manière transitoire et a représenté plus de 25% des bactéries jusqu'à six mois après le traitement par substitut de selles. Les chercheurs ont ainsi pu émettre l'hypothèse qu'un certain nombre de bactéries administrées colonisent de façon stable le côlon des patients.

Cependant, compte-tenu du faible nombre de patients traités et de leurs profils différents, il est difficile de tirer des conclusions pouvant être appliquées à une plus large population. Néanmoins, la guérison clinique constatée jusqu'à six mois de suivi, démontre la faisabilité de cette approche comme une alternative à la greffe de selles classique [45]. Elle peut également servir de base à la réalisation d'un greffon de bactéries sans passer par l'utilisation de don de selles.

Ainsi, ces deux modèles expérimentaux présentés constituent une base précieuse. Ils montrent qu'un substitut de selles peut être une alternative efficace et réalisable pour le traitement des ICD récurrentes. Ils permettent de mettre en évidence le potentiel thérapeutique des communautés microbiennes intestinales pour le traitement des ICD et potentiellement pour d'autres désordres intestinaux chez l'homme.

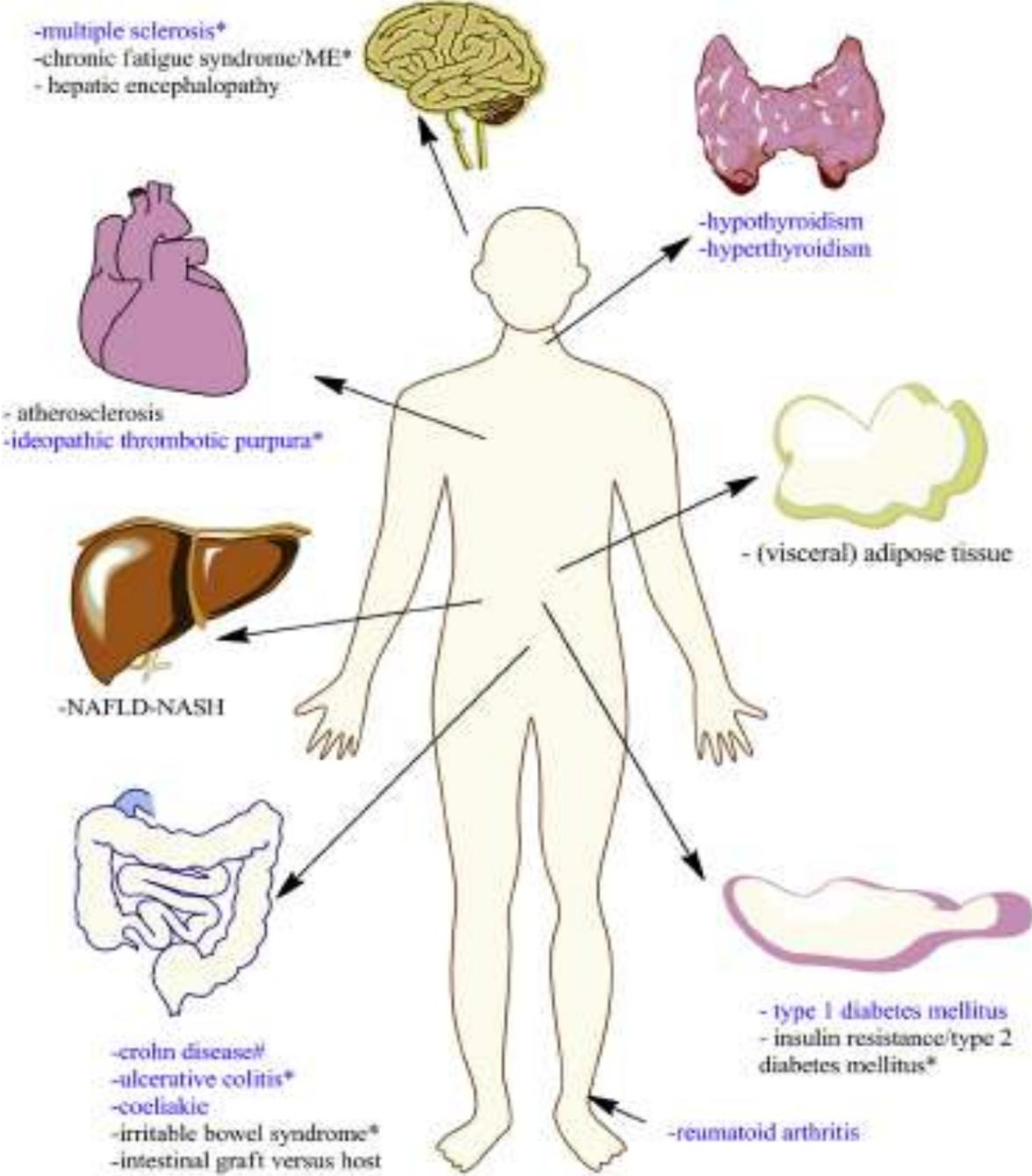
2.2.10 Perspectives

A l'heure actuelle, on connaît le rôle essentiel du microbiote intestinal dans le métabolisme et les fonctions immunitaires de l'organisme. On sait également que de nombreuses pathologies sont associées à une altération de la flore intestinale au-delà des ICD et des CPM.

Au vu de ces observations, les scientifiques commencent à comprendre et à explorer les bénéfices potentiels de la transplantation fécale sur ces dysfonctionnements liés au microbiote intestinal. En effet, des rapports de cas décrivent des résultats prometteurs dans le traitement de certaines maladies infectieuses, métaboliques et auto-immunes.

Le schéma [46] ci-dessous résume les états pathologiques humains pour lesquels une perturbation de la composition de la flore intestinale a été constatée et pour lesquels des rapports de cas de transplantation fécale étaient disponibles.

Figure 13 : Représentation des pathologies pour lesquelles un désordre intestinal est associé (Bleu : maladies auto-immunes et Noir : maladies inducibles) et des rapports de transplantation fécale utilisée dans ces états pathologiques. (Effet bénéfique signalé par une *; effet indésirable ou négatif indiqué par #) [46].



- blue: autoimmune
 - black: inducible
 * positive effect fecal transplantation
 # negative effect fecal transplantation

Ainsi on peut constater que le désordre du microbiote intestinal est au cœur d'une grande diversité de pathologies et qu'il devient une cible thérapeutique potentielle. L'idée de modifier cet écosystème par bactériothérapie semble donc très intéressante à étudier.

Prenons l'exemple des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) telles que la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique. Ce sont des pathologies évoluant par poussées entrecoupées de phases de rémission. Elles sont à l'origine de douleurs abdominales et de diarrhées parfois sanglantes. Actuellement, il semble établi qu'au cours des maladies, la microflore joue un rôle délétère pro-inflammatoire. Il existe des différences significatives entre la microflore intestinale d'un sujet sain et celle d'un sujet atteint de MICI [47].

Des chercheurs ont pu établir des premières observations prometteuses pour le traitement des MICI par bactériothérapie.

Ainsi, Anderson et ses collaborateurs ont résumé divers rapports de cas publiés ayant présenté des résultats prometteurs utilisant la TMF dans le traitement des MICI. Ils ont constaté une rémission de la pathologie dans 63 % des cas, et une réduction des symptômes gastro-intestinaux dans 76% des cas.

Brandt et son équipe ont également observé lors de leurs travaux un fait intéressant. En effet, bien que la TMF initiale ne résolve pas immédiatement la colite ulcéreuse comme c'est le cas dans le traitement des ICD, ils ont constaté que le microbiote implanté semble transformer progressivement sur plusieurs mois ou années la muqueuse enflammée en une muqueuse histologiquement saine [48]. Ceci n'est qu'une première approche de l'application de la transplantation fécale sur ce type de pathologie.

Au-delà des pathologies digestives, la TMF révèle l'impact que peut avoir le microbiote intestinal dans la pathogénie de nombreuses maladies extra-digestives notamment métaboliques et neurologiques [49].

En effet, dans les modèles animaux d'obésité, on constate des modifications du microbiote intestinal. Ces modifications pourraient jouer un rôle dans le développement de maladies métaboliques en augmentant la perméabilité intestinale favorisant un état inflammatoire chronique qui contribuerait au développement des maladies métaboliques et cardiovasculaires. Des éléments d'origine microbienne pourraient pénétrer dans la circulation sanguine et participer à l'inflammation modérée associée à l'obésité. Ainsi la concentration sérique de lipopolysaccharides (LPS) principal composant de la paroi des bactéries à gram négatif est significativement augmentée chez les individus obèses et est positivement corrélée avec l'insulinémie à jeun chez les patients diabétiques [49]

En 2010, des chercheurs ont présenté les résultats d'une étude évaluant l'efficacité de la TMF chez 18 hommes atteints du syndrome métabolique¹. 50% des patients ont reçu des matières fécales provenant de donneurs masculins non obèses et l'autre moitié a reçu sa propre matière fécale. Il apparaît une réduction du taux de triglycérides chez les patients atteints du syndrome métaboliques transplantés avec un microbiote de sujet dit « maigre », alors qu'aucun effet n'a été observé dans le groupe de contrôle [49].

Des affections neurologiques comme la maladie de Parkinson² pourraient être associées à des anomalies du microbiote intestinal. Des cas d'amélioration des symptômes neurologiques ont été rapportés chez des patients atteints de maladie de Parkinson après normalisation de leurs troubles du transit [49].

A ce jour, les rapports de cas disponibles ne nous donnent qu'un maigre aperçu des possibilités inexplorées de la bactériothérapie sur un horizon thérapeutique large. D'autres études contrôlées sont nécessaires pour vérifier la validité clinique des observations présentées, déterminer l'efficacité du changement de la composition du microbiote intestinal avant et après la transplantation fécale tout en prenant en compte la reproductibilité et la sécurité d'emploi. Cette alternative thérapeutique que nous offre la bactériothérapie est un domaine en plein expansion.

¹ Syndrome métabolique associe de façon variable des anomalies du métabolisme glucidique et lipidique dans un contexte d'excès de graisse viscérale et d'insulinorésistance. Il favorise la survenue du diabète de type II et des maladies cardiovasculaires. Il expose également au risque d'hépatopathie non alcoolique et de syndrome d'apnée du sommeil et de syndrome des ovaires polykystiques.

² La maladie de Parkinson idiopathique est une affection neurodégénérative du système nerveux central caractérisée par des déficiences motrices (ralentissement gestuel, rigidité de type extrapyramidale et tremblement de repos) associées ou non à des complications non motrices (troubles cognitifs, syndrome dysautonomique).

Conclusions

Depuis plusieurs années, les infections à *C. difficile* sont devenues préoccupantes en raison de l'augmentation de leur fréquence et de leur sévérité. De plus, le nombre d'échec aux différentes antibiothérapies ainsi que le nombre de patients victimes de rechutes ou de récurrences est également en augmentation. La fréquence des ICD se produit dans 15 à 30% des cas après un épisode initial. Notons que près de 65% des patients ayant subi une première récurrence en feront une nouvelle après l'arrêt de l'antibiotique.

Dans ce contexte, des thérapies alternatives non antibiotiques sont nécessaires pour rompre ce cercle des récurrences. L'approche immunologique et la transplantation de microbiote fécal ont tous deux des taux de réussite variables.

Cependant, avec des taux de réponses rapportées supérieures à 90% associées à une résolution des symptômes rapides, la TMF semble être la voie la plus prometteuse pour le traitement des ICD récurrentes et réfractaires aux traitements standards. Cette technique permet de restaurer la richesse microbienne et l'homéostasie intestinale avec peu de moyens et à moindre coût.

Bien que les résultats soient très encourageants, des études complémentaires et randomisées sont nécessaires pour confirmer la validité et la sécurité d'emploi de cette nouvelle thérapie. A ce jour, il n'existe pas de consensus concernant son application. On ignore encore comment la composition du microbiote greffé évolue au cours du temps et quels sont ses effets sur les pathologies sous-jacentes du receveur. De plus, ce type de procédé peut provoquer un sentiment de dégoût de la part du patient traité qu'il va falloir surmonter. Et plus important, bien qu'il existe une sélection des donneurs de selles, les chercheurs doivent réfléchir sur un moyen de minimiser au maximum le risque de transmission d'agents pathogènes entre le donneur et le receveur. Des premiers travaux ont été menés pour élaborer des greffons microbiens contrôlés. Il est important de rester prudent. En effet, tous ces obstacles restent à franchir avant d'envisager une diffusion de cette thérapie à une plus large population.

Annexes

Annexe 1:

Full-Length Donor History Questionnaire

	YES	NO
Are you		
1. Feeling healthy and well today?		
2. Currently taking an antibiotic?		
3. Currently taking any other medication for an infection?		
Please read the Medication Deferral List.		
4. Are you now taking or have you ever taken any medications on the Medication Deferral List?		
5. Have you read the educational materials?		
In the past 48 hours		
6. Have you taken aspirin or anything that has aspirin in it?		
In the past 6 weeks		
7. Female donors: Have you been pregnant or are you pregnant now? (Males: check "I am male.")		<input type="checkbox"/> I am male
In the past 8 weeks have you		
8. Donated blood, platelets or plasma?		
9. Had any vaccinations or other shots?		
10. Had contact with someone who had a smallpox vaccination?		
In the past 16 weeks		
11. Have you donated a double unit of red cells using an apheresis machine?		
In the past 12 months have you		
12. Had a blood transfusion?		
13. Had a transplant such as organ, tissue, or bone marrow?		
14. Had a graft such as bone or skin?		
15. Come into contact with someone else's blood?		
16. Had an accidental needle-stick?		
17. Had sexual contact with anyone who has HIV/AIDS or has had a positive test for the HIV/AIDS virus?		
18. Had sexual contact with a prostitute or anyone else who takes money or drugs or other payment for sex?		
19. Had sexual contact with anyone who has ever used needles to take drugs or steroids, or anything not prescribed by their doctor?		

20. Had sexual contact with anyone who has hemophilia or has used clotting factor concentrates?			
21. Female donors: Had sexual contact with a male who has ever had sexual contact with another male? (Males: check "I am male.")			<input type="checkbox"/> I am female
22. Had sexual contact with a person who has hepatitis?			
23. Lived with a person who has hepatitis?			
24. Had a tattoo?			
25. Had ear or body piercing?			
26. Had or been treated for syphilis or gonorrhea?			
27. Been in juvenile detention, lockup, jail, or prison for more than 72 hours?			
In the past three years have you			
28. Been outside the United States or Canada?			
From 1980 through 1996,			
29. Did you spend time that adds up to three (3) months or more in the United Kingdom? (Review list of countries in the UK)			
30. Were you a member of the U.S. military, a civilian military employee, or a dependent of a member of the U.S. military?			
From 1980 to the present, did you			
31. Spend time that adds up to five (5) years or more in Europe? (Review list of countries in Europe.)			
32. Receive a blood transfusion in the United Kingdom or France? (Review list of countries in the UK.)			
From 1977 to the present, have you			
33. Received money, drugs, or other payment for sex?			
34. Male donors: had sexual contact with another male, even once? (Females: check "I am female.")			<input type="checkbox"/> I am female
Have you EVER			
35. Had a positive test for the HIV/AIDS virus?			
36. Used needles to take drugs, steroids, or anything not prescribed by your doctor?			
37. Used clotting factor concentrates?			
38. Had hepatitis?			
39. Had malaria?			
40. Had Chagas' disease?			
41. Had babesiosis?			
42. Received a dura mater (or brain covering) graft?			
43. Had any type of cancer, including leukemia?			
44. Had any problems with your heart or lungs?			
45. Had a bleeding condition or a blood disease?			
46. Had sexual contact with anyone who was born in or lived in Africa?			
47. Been in Africa?			
48. Have any of your relatives had Creutzfeldt-Jakob disease?			
Use this area for additional questions			

Annexe 2:

Procédure de TMF : méthode par coloscopie

Processus pré-TMF :

- Consentement du donneur et du patient
- TMF Complete ≤ 2 semaines après la sélection du donneur
- **Patient**
 - Arrêt de l'antibiothérapie 1 à 3 jours avant la transplantation
 - Lavage colique par une préparation de polyéthylène glycol
- **Donneur**
 - Administration d'un laxatif doux la veille de la TMF (hydroxyde de magnésium ou citrate de magnésium) si nécessaire
 - Le donneur peut fournir des selles fraîches sur le site de transplantation le matin de la TMF ou le prélever chez lui et l'apporter lors de la TMF
 - Le don de selles doit être fourni et transplanté le jour même de la TMF
- La TMF doit débuter moins de 6h après le recueil de l'échantillon de selle
- **Préparation du don de selle**
 - Respecter les précautions de sécurité de niveau 2 de risque biologique (port de gants, de blouse, de masque et de lunettes de protection)
 - ajouter 50g de don de selles dans 200 à 800 ml de solution saline
 - Agiter le tout manuellement ou à l'aide d'un vortex jusqu'à obtention d'une suspension liquide et homogène
 - Filtrer la suspension 1 à 2 fois à travers un tampon de gaz (ou un autre système de filtration)
 - Transférer la suspension dans une large seringue (ex : 60 cc)

Coloscopie

- Sédation possible
- Coloscopie standard par le côlon droit pour atteindre l'iléon terminal ou le caecum chaque fois que possible
- Délivrer la suspension de selle (seringue pré-remplie) à travers le canal du coloscope
 - Délivrer toute la suspension au point le plus proximal (but : iléon terminal)

Ou

- Délivrer la suspension progressivement lors du retrait du coloscope

Processus post-TMF

➤ Patient

- Immédiatement après la TMF, administration de l'opéramide (ou autre anti-diarrhéique)
- Éviter l'excrétion de selle pendant au moins 4h
- Alitement aussi longtemps que possible jusqu'au lendemain de la TMF
- Informer le clinicien de tous signes de retour de l'infection à *C. difficile*

Références Bibliographiques

- [1] Freney J., Renaud F., Leclercq R., et al. , Précis de bactériologie clinique. 2^{ème} éd Eska ; 2007
- [2] *Clostridium difficile*, aspect des colonies. Disponible sur : http://www.colonista.com/my_weblog/2010/11/clostridium-responsible-for-diarrhea.html (consulté le 24 septembre 2012)
- [3] *Clostridium difficile*, coloration de gram. Disponible sur : <http://www.nursinghomesabuseblog.com/chicago-illinois-nursing-home-abuse/cdiff-infection-alleged-to-blame-for-death-of-nursing-home-patient> (consulté le 24 septembre 2012)
- [4] Janoir C., Collignon A., Facteur de virulence de *Clostridium difficile*. Revue Française des laboratoires 2004, 368, p:43-50
- [5] Voth D.E., Ballard J.D., *Clostridium difficile* toxins: Mechanism of action and role in disease. Clinical Microbiology Review April 2005, 18 (2), p:247-263
- [6] Barbut F., Infections à *Clostridium difficile* : une réémergence inattendue. Pathologie Biologique 2008, 56 (1), p:6-9
- [7] Barbut F., Blanckaert K., *Clostridium difficile* et hygiène des mains. Disponible sur <http://www.infectiologie.com/site/medias/JNI/JNI07/INF/CT1-INF-03-Blanckaert.pdf> (consulté le 30 janvier 2012)
- [8] Eckert C., Barbut F., Les diarrhées post-antibiotiques. Revue francophone des laboratoires Nov 2010, 426, p:93-99
- [9] Ducluzeau R., Ecosystème microbien du tube digestif. EMC-Gastro-enterologie 1998, 8(2), p.1
- [10] Barbut F., Beaugerie L., Petit J-C., « *Clostridium difficile* » et pathologie digestive. EMC-Maladies infectieuses 2008
- [11] Barbut F., Eckert C., *Clostridium difficile*: Clinique, physiopathologie, diagnostic, traitement, prévention. Disponible sur <http://www.infectio-lille.com/diaporamas/DUAC/CD-DUAC09-Barbut.pdf> (consulté de 20 novembre 2012)
- [12] Bertholom C., Virulence accrue des infections à *Clostridium difficile*. Option/Bio Mai 2008, 19 (400-401), p.18
- [13] Beaugerie L., Barbut F., Colite des antibiotiques. Post'u 2009, p:153-16. Disponible sur www.fmcgastro.org (consulté le 15 janvier 2012)

[14] Bouley M., Desailly-chanson M-A., Rossignol E., et al. Rapport de la mission sur l'épidémie à *Clostridium difficile* dans le nord pas de calais. oct 2006. Disponible sur : http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_clostridium_desailly-chanson_1206-3.pdf (consulté le 4 avril 2012)

[15] InVS-Raisin, Infections à *Clostridium difficile* : situation épidémiologique, France, juillet 2009-juin 2010 Bilan au 30 août 2010. Disponible sur : http://www.invs.sante.fr/surveillance/icd/bilan_national_2010/index.htm (consulté le 12 Mai 2012)

[16] Barbut F., Lalande V., Petit J-C., Epidémiologie et Prévention des infections digestives à *Clostridium difficile*, revue française des laboratoires dec 2004, 368, p:27-34

[17] Stevens V., Dumyati G., Fine L.S, et al., Cumulative Antibiotic Exposures Over Time and the Risk of *Clostridium difficile* Infection. Clinical Infectious Diseases 2011, 53(1), p:42-48

[18] Bertholom C., Diagnostic et traitement des infections digestives à *Clostridium difficile*, OptionBio nov 2013, 499

[19] Salles N., *Clostridium difficile* : prévalence, conséquence et traitement chez la personne âgée, Cah. Année Gériatrie, 2009, 1, p:73-79

[20] Buyse S., Azoulay E., Barbut F., et al., Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement, Réanimation 2005, 14 , p:255-263

[21] Kaltenbach G., Heitz D., Diarrhées associées aux antibiotiques chez le sujet âgé, la revue de médecine interne 2005, 25, p:46-53

[22] Eckert C., Lavande V., Barbut F., Diagnostic des infections à *C. difficile*. Journal des Anti-infectieux 2011, 13(2), p:67-73

[23] Barbut F., Meynard J-L., Eckert C., Traitement des infections à *Clostridium difficile* : anciennes et nouvelles approches, Journal des anti-infectieux 2011,13, p:74-86

[24] Cattoir V., Tattevin P., Fidaxomicine, un nouveau traitement pour les infections à *Clostridium difficile*. Journal des Anti-infectieux mars 2012, 15(1), p:32-38

[25] Decré D., Tankovic J., Barbu F., et al., Sensibilité de *Clostridium difficile* aux antibiotiques et traitements des infections. Revue Française des laboratoires déc 2004,368, p:65-71

[26] Barbut F., Eckert C., *Clostridium difficile*: Clinique, physiopathologie, diagnostic, traitement, prévention. Disponible sur <http://www.infectio-lille.com/diaporamas/DUAC/CD-DUAC09-Barbut.pdf> (consulté de 20 novembre 2012)

- [27] Delmée M., Infections à *Clostridium difficile* et immunité. Revue française des Laboratoires, déc 2004, (368), p:51-55
- [28] McPherson S., Rees C.J., Ellis R., et al, Intravenous Immunoglobulin for the Treatment of Severe, Refractory, and Recurrent *Clostridium difficile* Diarrhea, Dis Colon Rectum 2006, 49, p:640–645
- [29] Lowy I., Molrine D.C., Leav B.A., et al, Treatment with Monoclonal Antibodies against *Clostridium difficile* Toxins, The New England Journal of Medicine Janv 2010, 362(3), p:197-205
- [30] Manus J-M., Sanofi Pasteur : un vaccin anti *C. difficile*, Revue Francophone des laboratoires Juil-Août 2010, 40(424), p.14
- [31] Gough E., Shaikh H., Manges AR., Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. Clinical Infectious Diseases 2011, 53 (10), p:994-1002
- [32] Jeffrey S., Weissman-Walter C., Stool transplants: Ready for Primetime? Curr Gastroenterol Rep 2012, 14, p:313-316
- [33] Rohlke F., Stollman N., Fecal microbiota transplantation in relapsing CD infection *Clostridium difficile* infection. Therapeutic Advances in Gastroenterology 2012, 5(6), p:403-420
- [34] Bakken J., Borody T., Lawrence J. Brandt, et al, Treating *Clostridium difficile* Infection with Fecal Microbiota Transplantation. Clin Gastroenterol Hepatol déc 2011, 9(12), p:1044-1049
- [35] Landy J., et al, Review article: fecal transplantation therapy for gastrointestinal disease, Alimentary Pharmacology and Therapeutics 2011, 34(4), p:409-415
- [36] Bakken JS., Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. Anaerobe Dec 2009, 15(6), p:285-289
- [37] Kleger A., Schnell J., Essig A., et al, Fecal Transplant in refractory *Clostridium difficile* Colitis. Dtsch Arztebl Int 2013, 110(7), p:108-15
- [38] le trait d'Union. Centre de soins de l'infection par VIH.
Disponible sur www.docvadis.fr/medicale_a/page/notre_guide_medical/examens_complementaires/je_vais_passer_une_coloscopie_2.html, (consulté le 4 février 2013)
- [39] Les co-logis des Aînées. Cancer et dénutrition. Disponible sur www.cancer_et_denutrition_patient.com, (consulté le 4 février 2013)
- [40] Y.-M.D., Transplantation fécale en comprimés, OptionBio nov 2013, 24(499), p.11

- [41] Russell G., Kaplan J., Ferraro, M. and Michelow, I., Fecal bacteriotherapy for relapsing *Clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. Pediatrics 2010, 126,p:239-242
- [42] Brandt L.J., Aroniadis O.C., Mellow M., Long-term follow-up of Colonoscopic Fecal Microbiota Transplant for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. Am J Gastroenterol 2012, 107, p:1079-1087
- [43] Van Nood E., Speelman P., Kuijper E.J., et al, Struggling with recurrent *Clostridium difficile* infections: is donor faeces the solution? Eurosurveillance 2009, 14(34)
- [44] Lawley T.D., Simon C., Walker A.W., et al, Targeted Restoration of the Intestinal Microbiota with a Simple, Defined Bacteriotherapy Resolves Relapsing *Clostridium difficile* Disease in Mice.PLOS Pathogens 2012, 8(10)
- [45] Petrof E.O., Gloor G.B., Vannerb S.J., et al, Stool Therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. Microbiome 2013, 1(3)
- [46] Vrieze A., de Groot P.F., Kootte R.S, et al, Fecal transplant: A safe and sustainable clinical therapy for restoring intestinal microbial balance in human disease? Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 2013, 27, p:127-137
- [47] Quévrain E., Seksik P., Microbiote intestinal de la Diarrhée post-antibiotiques aux maladies inflammatoires intestinales. Presse Médicale 2013, 42(1), p:45-51
- [48] Borody T.J., Paramsothy S., Agrawal G., Fecal Microbiota Transplantation: Indications, Methods, Evidence, and Future Directions. Curr Gastroenterol Rep 2013, 15(8)
- [49] Fumery M., Corcos O., Kapel N., et al, Intérêt et technique de la transplantation fécale. Journal des Anti-infectieux 2013, 15, p:187-192

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2013/2014

Nom : Denchiche
Prénom : Naïma

Titre de la thèse : Infection à *Clostridium difficile*, nouvelle stratégie thérapeutique : la bactériothérapie (ou transplantation de microbiote fécal)

Mots-clés : Infection à *Clostridium difficile*, diarrhée, Bactériothérapie, transplantation de microbiote fécal, flore fécal

Résumé : L'infection à *C. difficile* est une maladie gastro-intestinale causée en partie par la perturbation de la flore intestinale. L'administration d'antibiotiques modifie l'équilibre de la flore intestinale, ce qui va permettre au *C. difficile* d'infecter l'intestin. L'épisode initial d'infection à *C. difficile* (ICD) est traité par métronidazole ou vancomycine après l'arrêt si possible de l'antibiothérapie responsable de la perturbation de la flore. Jusqu'à 35% des patients traités connaîtront une récurrence des symptômes après amélioration de l'épisode initial. Et jusqu'à 65% de ces patients vont développer un modèle chronique de la maladie avec des ICD récurrentes. Pour ces patients, une alternative thérapeutique peut être envisagée. Elle est appelée bactériothérapie ou transplantation de microbiote fécal (TMF). Elle consiste à restaurer l'écologie microbienne et l'homéostasie de l'intestin en y réintroduisant une flore bactérienne saine, prélevée dans les selles provenant de donneur sains. Depuis ces dernières années, de nombreuses études multicentriques ont été menées. Le traitement des ICD récurrentes par TMF a démontré un taux de guérison primaire de 91% (définie comme la disparition des symptômes sans récurrences dans les 90 jours suivants la TMF). La bactériothérapie est une procédure facile à réaliser et nécessitant peu de moyens techniques. Elle permet de briser les cycles d'utilisation répétée d'antibiotiques. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer la validité et la sécurité d'emploi de cette nouvelle thérapie. Les chercheurs doivent réfléchir sur un moyen de minimiser au maximum le risque de transmission d'agents pathogènes ou de souches multirésistantes aux antibiotiques entre le donneur et le receveur de selles.

Membres du jury :

Président : Mme Neut Christel, maitre de conférences, faculté de pharmacie de Lille

Assesseur(s) : Mme Odou Marie-Françoise, maitre de conférences, faculté de pharmacie de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr Pineton de Chambrun Guillaume, chef de clinique, CHRU de Lille